

# **PHOTODYNAMIC THERAPY IN SELECTIVE CELL INACTIVATION IN BLOOD AND TREATING IMMUNE DYSFUNCTION DISEASES**

Publication number: JP10508577 (T)

Publication date: 1998-08-25

Inventor(s):

Applicant(s):

Classification:

- international: C07D487/22; A61K31/409; A61K31/46; A61K41/00;  
A61K47/00; A61P29/00; A61P37/00; C07D487/00;  
A61K31/409; A61K31/46; A61K41/00; A61K47/00;  
A61P29/00; A61P37/00; (IPC1-7): C07D487/22; A61K41/00;  
A61K31/46

- European: A61K31/409; A61K41/00W

Application number: JP19960510485T 19950922

Priority number(s): WO1995CA00543 19950922; US19940309509 19940922

Also published as:

WO9609068 (A1)  
TW407055 (B)  
RU2166331 (C2)  
PL319370 (A1)  
NZ292854 (A)

more >>

Abstract not available for JP 10508577 (T)

Abstract of corresponding document: **WO 9609068 (A1)**

Multiple sclerosis and rheumatoid arthritis can be treated effectively using photodynamic therapy. In this protocol, a photoactive compound is administered, allowed to distribute in the affected subject, and the subject is then irradiated to activate the photoactive compound. Alternatively, the blood of a subject to be treated can be subjected to PDT extracorporeally. In the case of rheumatoid arthritis, localized treatment at the joints may also be employed.

Data supplied from the *espacenet* database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平10-508577

(43) 公表日 平成10年(1998) 8月25日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	F I
A 6 1 K 41/00	A B B	A 6 1 K 41/00
31/46	A B G	31/46
// C 0 7 D 487/22		C 0 7 D 487/22

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 52 頁)

(21) 出願番号 特願平8-510485  
(86) (22) 出願日 平成7年(1995) 9月22日  
(85) 翻訳文提出日 平成9年(1997) 3月21日  
(86) 国際出願番号 P C T / C A 9 5 / 0 0 5 4 3  
(87) 国際公開番号 W O 9 6 / 0 9 0 6 8  
(87) 国際公開日 平成8年(1996) 3月28日  
(31) 優先権主張番号 0 8 / 3 0 9 , 5 0 9  
(32) 優先日 1994年9月22日  
(33) 優先権主張国 米国 (U S)

(71) 出願人 クアドラ ロジック テクノロジーズ インコーポレイテッド  
カナダ国 プイ5ゼット 4エイチ5 プリ  
ティッシュ コロンビア, パンクーバ  
ー, ウェスト 6ティーエイチ アベニ  
ュー 520  
(71) 出願人 ザ ユニバーシティ オブ プリティッシ  
ュ コロンビア  
カナダ国 プイ6ティー 1ゼット1 プ  
リティッシュ コロンビア, パンクーバ  
ー, メイン モール 2036  
(74) 代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血液中の選択的細胞不活性化および免疫機能不全疾患の処置における光力学治療

(57) 【要約】

多発性硬化症および慢性関節リウマチを、光力学治療を用いて効果的に処置し得る。このプロトコルにおいては、光活性化化合物を投与し、疾患被験体に分配し、次いで被験体に照射し、光活性化化合物を活性化させる。あるいは、処置すべき被験体の血液を、生体外でPDTに供し得る。慢性関節リウマチの場合、関節の局所的処置もまた、用いられ得る。

**【特許請求の範囲】**

1. 白血球含有流体中の活性化白血球細胞集団を選択的に減少させることを必要とする被験体の白血球含有流体中の活性化白血球細胞集団を選択的に減少させる方法であって、以下の工程を包含する、方法：

a. 該流体またはその活性化白血球含有画分を、有効量の光活性化化合物で処理する工程、および

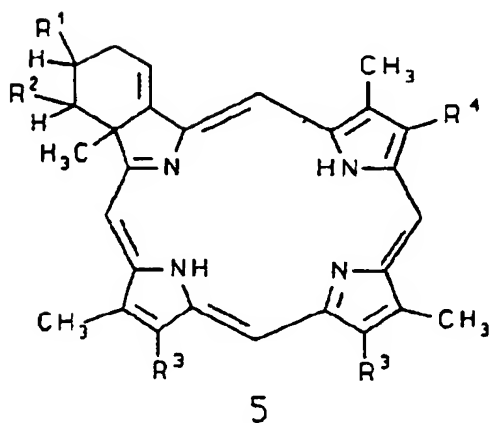
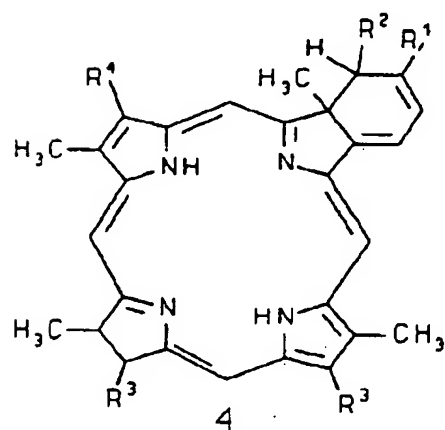
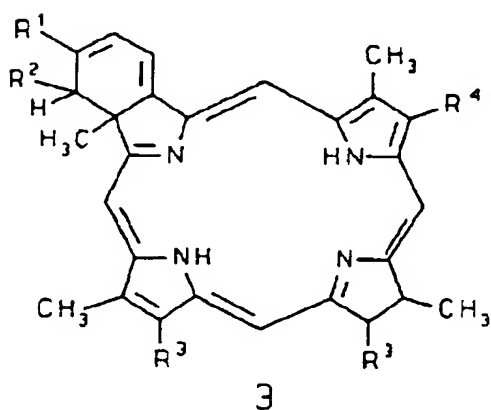
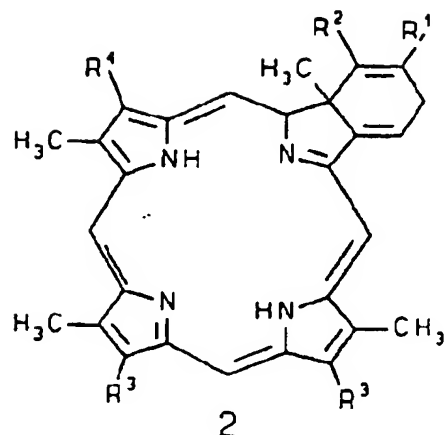
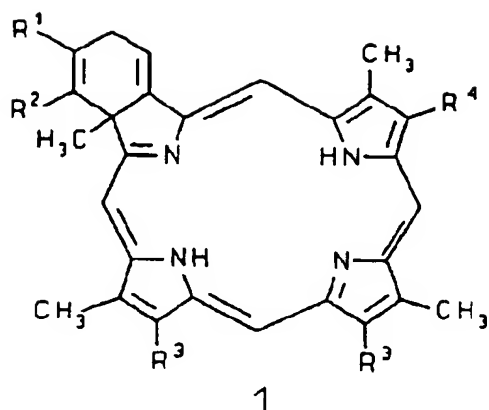
b. 該光活性化化合物によって吸収される少なくとも1種の波長を含む光を該処理流体または画分に照射する工程。

2. 前記光活性化化合物がポルフィリンベースの化合物である、請求項1に記載の方法。

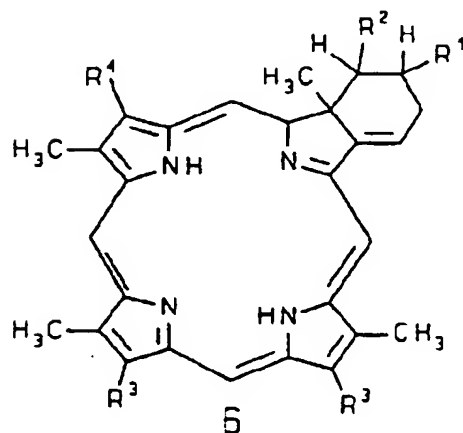
3. 前記化合物がグリーンポルフィリン化合物(Gp)またはヘマトポルフィリン誘導体である、請求項1に記載の方法。

4. 前記Gp化合物がBPD-MAであり、そして前記ヘマトポルフィリン誘導体がポルフィマーナトリウムである、請求項3に記載の方法。

5. 前記光活性化化合物が以下からなる群から選択される式を有するGp化合物である、請求項1に記載の方法。



おなじ



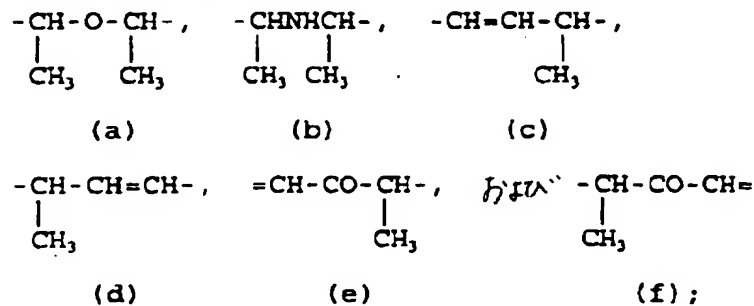
ここで：

$R^1$  および  $R^2$  はそれぞれ独立して、カルバルコキシ、アルキルまたはアリール  
スルホニル、アリール、シアノ、または  $-\text{CONR}^5\text{CO}-$  であり、ここで  $R^5$  はア  
ルキルまたはアリールであり；

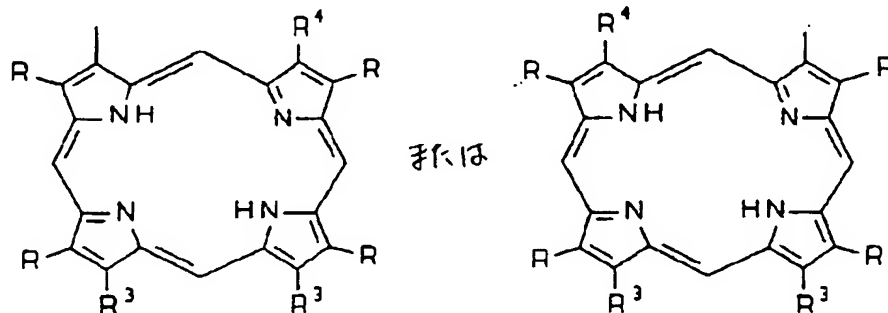
各 $R^3$ は独立して、低級アルキル、カルボキシアルキル、またはそれらの塩、エステル、アミド、またはアシルヒドラゾンであり；そして

$R^4$ は、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{OR}^4$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{COOR}^4$ 、 $-\text{CH}(\text{OR}^4)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{OR}^4)\text{CH}_2\text{OR}^4$ 、 $-\text{CH}(\text{SR}^4)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{NR}^4_2)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CN})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{COOR}^4)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{COOCR}^4)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{ハロ})\text{CH}_3$ 、または $-\text{CH}(\text{ハロ})\text{CH}_2(\text{ハロ})$ であり、ここで $R^4$ はH、アルキル、直接的または間接的なビニルの誘導体化により生じる12C未満の有機基、あるいは式-L-Pの1個～3個のテトラピロール型の環を含有する基であり、ここで：

-L-は以下からなる群から選択され：



そしてPはGp（ここで、Gpは該1～6の式であるが、 $R^4$ を欠き、そして式1～6に示す $R^4$ により占有されている位置を介してLに結合する）および下式のポルフィリンからなる群から選択される構造を有し：



ここでRはHまたはアルキルであり、 $R^3$ および $R^4$ は上記で定義されたとおりであり、そして非占有結合は、Lに結合する。

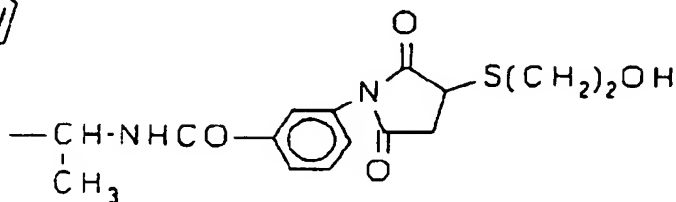
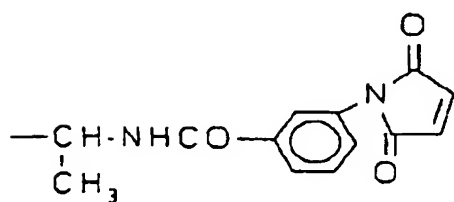
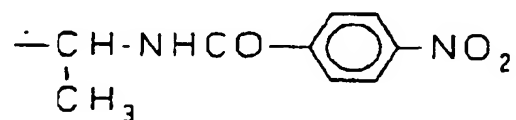
6.  $R^1$ および $R^2$ がカルボメトキシまたはカルボエトキシである、請求項5に

記載の方法。

7. 各 $R^3$ が $-CH_2CH_2COOH$ 、あるいはその塩、アミド、エステル、またはアシルヒドラゾンである、請求項5に記載の方法。

8.  $R^4$ が以下からなる群から選択される、請求項5に記載の方法：

$-CH(NH_2)CH_3$ 、 $-CH$ (イミダゾール) $CH_3$ 、



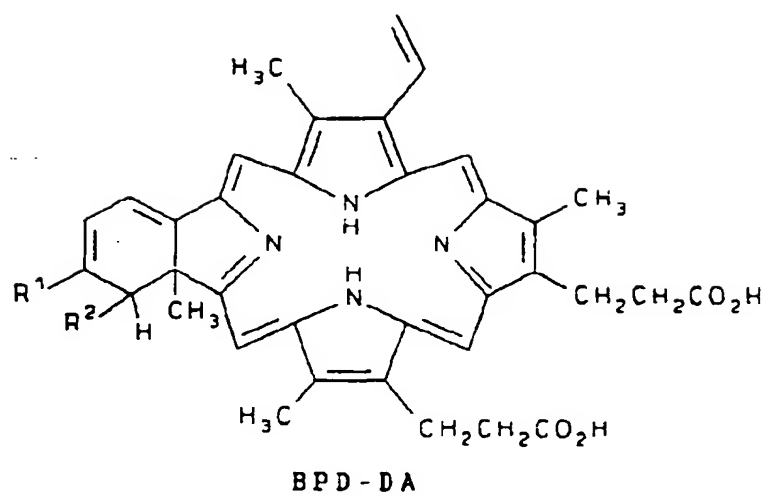
$-CH(OH)CH_3$ 、 $-CHBrCH_3$ 、 $-CH(OCH_3)CH_3$ 、 $-CH$ (ピリジニウムブロマイド) $CH_3$ 、 $-CH(SH)CH_3$ およびそのジスルフィド、 $-CHOHC_2H_4OH$ 、 $-CHO$ 、 $-COOH$ 、ならびに $-COOCH_3$ 。

9. 前記Gpが式3または4である、請求項5に記載の方法。

10. 前記Gpが以下からなる群から選択される式を有する、請求項5に記載の方法：

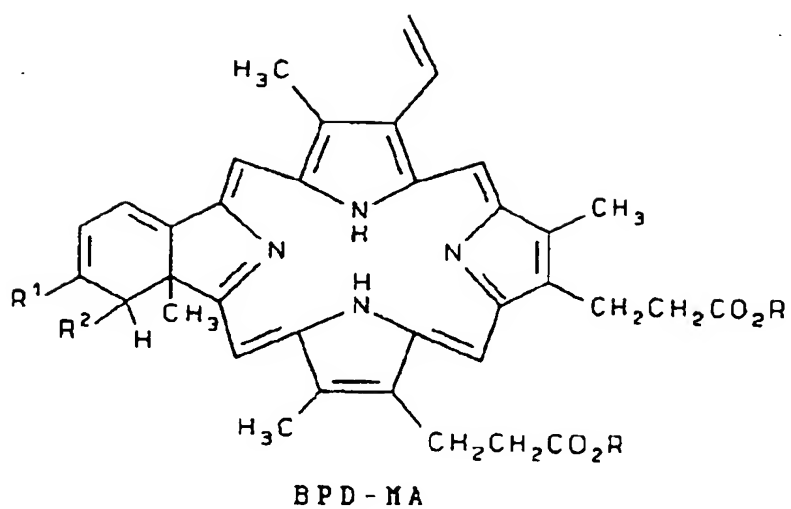
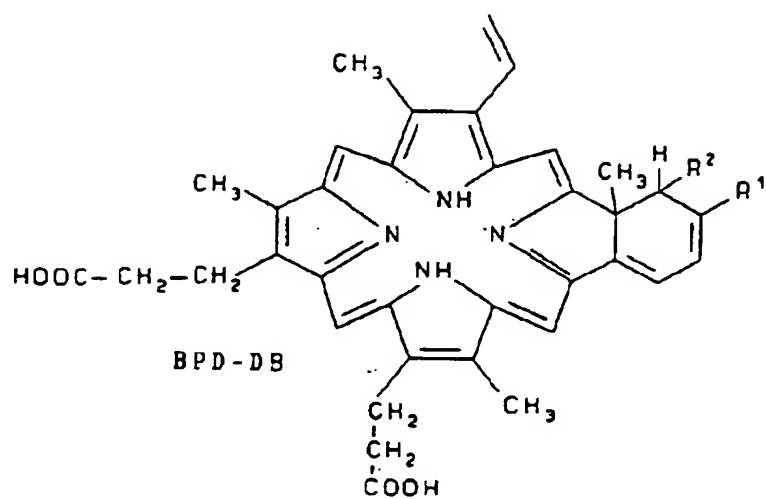
(6)

特表平10-508577

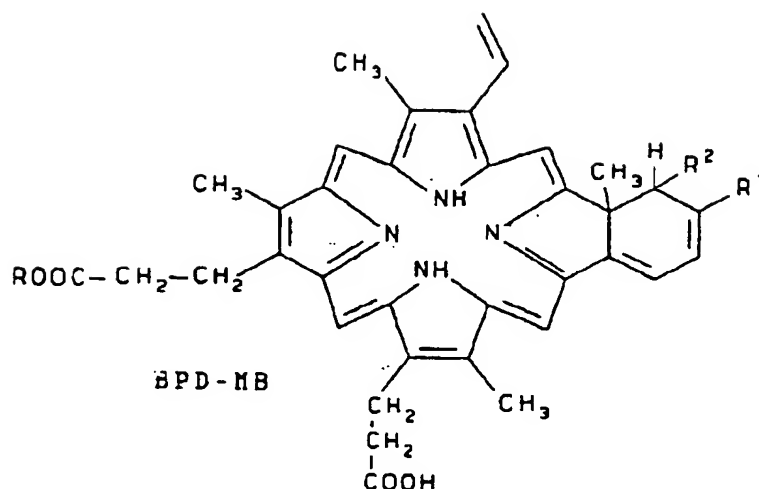


(7)

特表平 10-508577







1 1. 前記処理が、約 $0.05 \mu\text{g/ml}$ ～ $5 \mu\text{g/ml}$ の光活性化合物の濃度を生じる、請求項 1 に記載の方法。

1 2. 前記処理が、約 $0.1 \mu\text{g/ml}$ ～ $1 \mu\text{g/ml}$ の光活性化合物の濃度を生じる、請求項 1 に記載の方法。

1 3. 前記処理が、約 $0.5 \mu\text{g/ml}$ の光活性化合物の濃度を生じる、請求項 1 に記載の方法。

1 4. 免疫機能不全を有する患者を処置する方法であって、以下の工程を包含する、方法：

- a. 活性化白血球を含有する、該患者の白血球含有体液の少なくとも一部またはその画分を、有効量のグリーンポルフィリン(Gp)化合物で処理する工程；および
- b. 該Gp化合物によって吸収される少なくとも 1 種の波長を含む光を該処理体液に照射する工程。

1 5. 前記Gpが、BPD-DA、BPD-DB、BPD-MA、またはBPD-MBである、請求項 1 4 に記載の方法。

1 6. 前記患者が移植片レシピエントである、請求項 1 4 に記載の方法。

1 7. 前記患者が自己免疫疾患を有している、請求項 1 4 に記載の方法。

1 8. 前記自己免疫疾患が慢性関節リウマチである、請求項 1 7 に記載の方法。

。

1 9. 多発性硬化症の生理学的効果を改善する方法であって、以下の工程を包

含する、方法：

- a. そのような改善を必要とする被験体から血液を取り出す工程；
- b. 該血液またはその画分に、活性化時に生物学的効果を発揮するに有効な量の光活性化化合物を供給する工程；
- c. 該光活性化化合物を活性化し、その毒性をもたらすに十分な強度で、該光活性化化合物によって吸収される光を該血液またはその画分に照射する工程；および
- d. 該処理血液またはその画分を該被験体に戻す工程。

20. 前記光活性化化合物がポルフィリンベースの化合物である、請求項19に記載の方法。

21. 前記化合物がグリーンポルフィリンまたはヘマトポルフィリン誘導体である、請求項19に記載の方法。

22. 前記グリーンポルフィリンがBPD-MAであり、そして前記ヘマトポルフィリン誘導体がポルフィマーナトリウムである、請求項21に記載の方法。

23. 慢性関節リウマチの生理学的効果を改善する方法であって、以下の工程を包含する、方法：

- a. そのような改善を必要とする被験体に、該被験体中に分配するに有効な量の光活性化化合物を投与する工程；
- b. 該分配を生じさせる工程；および
- c. 該光活性化化合物を活性化し、その毒性をもたらすに十分な強度で、該光活性化化合物によって吸収される光を該被験体に照射する工程。

24. 前記光活性化化合物がポルフィリンベースの化合物である、請求項23に記載の方法。

25. 前記化合物がグリーンポルフィリンまたはヘマトポルフィリン誘導体である、請求項23に記載の方法。

26. 前記グリーンポルフィリンがBPD-MAであり、そして前記ヘマトポルフィリン誘導体がポルフィマーナトリウムである、請求項25に記載の方法。

27. 前記被験体がヒトである、請求項23に記載の方法。

28. 慢性関節リウマチの生理学的効果を改善する方法であって、以下の工程

を包含する、方法：

- a. そのような改善を必要とする被験体から血液を取り出す工程；
- b. 該血液またはその画分に、活性化時に生物学的効果を発揮するに有効な量の光活性化化合物を供給する工程；
- c. 該光活性化化合物を活性化し、その毒性をもたらすに十分な強度で、該光活性化化合物により吸収される光を該血液またはその画分に照射する工程；および
- d. 該処理血液またはその画分を該被験体に戻す工程。

29. 前記光活性化化合物がポルフィリンベースの化合物である、請求項28に記載の方法。

30. 前記化合物がグリーンポルフィリンまたはヘマトポルフィリン誘導体である、請求項28に記載の方法。

31. 前記グリーンポルフィリンがBPD-MAであり、そして前記ヘマトポルフィリン誘導体がポルフィマーナトリウムである、請求項30に記載の方法。

32. 慢性関節リウマチの生理学的効果を改善する方法であって、以下の工程を包含する、方法：

- a. そのような改善を必要とする被験体の少なくとも1カ所の関節に、光により活性化され、毒性をもたらすに有効な量の光活性化化合物を投与する工程；および
- b. 該光活性化化合物を活性化し、その毒性をもたらすに十分な強度で、該光活性化化合物によって吸収される光を該関節に照射する工程。

33. 前記光活性化化合物がポルフィリンベースの化合物である、請求項32に記載の方法。

34. 前記化合物がグリーンポルフィリンまたはヘマトポルフィリン誘導体である、請求項32に記載の方法。

35. 前記グリーンポルフィリンがBPD-MAであり、そして前記ヘマトポルフィリン誘導体がポルフィマーナトリウムである、請求項34に記載の方法。

36. 前記照射が前記被験体の少なくとも1カ所の関節に集中する、請求項32に記載の方法。

37. 請求項1の記載の方法によって活性化白血球が枯渇した体液、またはそ

の画分。

38. 前記体液が血液またはその画分であり、高レベルのCD8<sup>+</sup>細胞およびDR<sup>+</sup>細胞ならびに正常レベルのIL-2R<sup>+</sup>細胞を含有する、請求項37に記載の体液、またはその画分。

39. 前記体液またはその画分が、多発性硬化症または慢性関節リウマチに関連する、低下したレベルの白血球を含有する、請求項37に記載の体液またはその画分。

**【発明の詳細な説明】****血液中の選択的細胞不活性化および免疫機能不全疾患の処置における光力学治療技術分野**

本発明は、特定の疾患の進行において重要な、血液または骨髄細胞を選択的に枯渇させるための光力学的方法に関する。より詳細には、本発明は、免疫機能不全疾患を有する被験体（例えば、自己免疫疾患を有する患者、またはHIVに感染した患者）の血液または骨髄中の活性化白血球の集団を選択的に減少させる方法に関する。さらにより詳細には、本発明は、特定の自己免疫疾患（例えば、多発性硬化症、および慢性関節リウマチ）を、光力学治療を用いて処置する方法に関する。

**背景技術**

ヒト免疫不全ウイルスによりもたらされる免疫傷害(immunodisturbance)は研究されているが、この疾患の進行の性質は、いまだ不明確である。しかし、HIVに感染したヒトは、非感染CD4<sup>+</sup>細胞を溶解する循環細胞障害性Tリンパ球を有することが示されている。Zarlingら、*J. Immunol.*, 144:2992(1990)。CD4<sup>+</sup>細胞のレベルが枯渇する一方、HIV感染は、CD8<sup>+</sup>、DR<sup>+</sup>、およびIL-2R<sup>+</sup>白血球のレベルを高めることがまた、一般的に、理解される。IL-2R<sup>+</sup>は、活性化マーカーと考えられ、そしてDR<sup>+</sup>は、HLAマーカーである。これらは、CD4<sup>+</sup>およびCD8<sup>+</sup>のようなさらなるマーカーを有する細胞上に存在し得る。

この感染、および結果として生じた免疫抑制の進行を妨害するための1つのアプローチでは、免疫系の種々の構成要素に関して血液の組成を変化させるという計画を用いる。これを達成するための1つの試みにおいて、米国特許第4,960,408号は、AIDS関連症候群を有する被験体を全身的にプソラレンで処置し、次いでプソラレン化合物により吸収される波長を有する紫外線放射により、T-リンパ球を生体外で処置するプロセスを開示している。次いで、照射されたT細胞を被験体に戻す。この処置は、一定の様式ではないが、CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、およびCD8<sup>+</sup>細胞のレベルを明らかに高める。

光力学治療は、一般的に、光活性剤の投与、破壊が必要とされる細胞または組

織にこの薬剤を向かわせる工程、および光活性剤により吸収される光を細胞または組織に照射する工程を包含する。学説では、励起された光活性剤は、基底状態に減衰する間に、一般に一重項酸素と考えられている物質を生じ、これは近縁の細胞または組織に対して毒性である。

光力学治療は、最初、ヒトおよび動物における腫瘍の処置に適用された。光活性剤の多くのクラスが記載されており、これらは、UV光により活性化されるプロトポルフィリン、可視光により活性化される種々のヘマトポルフィリン誘導体、ならびにフタロシアニンのような他の芳香族系およびクロリンのような修飾ポルフィリンを含む。さらに、1992年3月10日に発行された米国特許第5,095,030号(これは、全体として本明細書中で参考として援用される)は、一般的に「グリーンポルフィリン(green porphyrin)」として記載される種々の波長特異的細胞障害剤を開示し、そして特許請求している。これらの化合物は、ディールス-アルダー反応により修飾されるポルフィリン誘導体であり、吸収波長をより長波長へ効果的にシフトさせる。これにより、これらの化合物が光力学治療に一般的に用いられる場合、例えば、ヘマトポルフィリン誘導体と比較していくつかの都合のよい特性が生じる。この特許において記載される、一般的にBPDと呼ばれるこれらの細胞障害剤は、周辺組織による入ってくる照射への干渉を最小化する波長で可視光を吸収する。

腫瘍および悪性疾患の処置に加え、光力学治療は、アテローム動脈硬化症プラークを破壊すること、および病原性因子を血液供給品から取り除くことについて示唆されている。一般的には、光活性剤は、正常細胞または組織と比較して、望まれない細胞または組織内に選択的に引きつけられ得るか、あるいは保持され得、そしてこのプロトコルの選択性は、一部は光活性剤のこの特徴に基づき、そして一部は、可視光またはUV光が適用される位置に集中することに基づいていると考えられていた。

現在、光活性剤、特に上記のグリーンポルフィリン化合物を用いて、HIV感染または他の免疫機能不全に関連する活性化白血球サブセットのレベルを選択的に

減少させることが可能であると見出されている。この枯渇は、正常に機能するB

細胞、CD4 細胞、CD8 細胞、またはNK細胞の集団に対する副作用なしになされ得る。赤血球または全血から分離後のいずれの白血球も、本発明の方法を用いて処理され得る。

現在、2つの特定の自己免疫疾患である、多発性硬化症および慢性関節リウマチは、光活性剤としてのグリーンポルフィリンの使用に関するだけでなく、通常と同様の光力学治療剤を利用する光力学治療に対する応答で確認されることもまた、見出されている。

#### 発明の開示

本発明は、高レベルの白血球活性化マーカーを示す被験体中の活性化白血球の集団を選択的に低下させる方法を提供する。本発明の方法は、体液（例えば、骨髓、血液）またはその適切な画分を、光力学治療に有用な特定のクラスの化合物で処理する工程、次いで光活性化合物によって吸収される少なくとも1種の波長を有する光を血液または画分に照射する工程を包含する。処置は、インビボ、完全に生体外、または部分的にインビボおよび部分的にエクスピボで行われ得る。

従って、1つの局面においては、本発明は、活性化白血球の集団を選択的に減少させることを必要とする被験体の体液中の活性化白血球の集団を選択的に減少させる方法であって、以下の工程を包含する方法に係る：

(1) 体液またはその活性化白血球含有画分を、有効量の光活性化合物（例えば、グリーンポルフィリン(Gp)化合物で処理する工程；

(2) 光活性化合物によって吸収される少なくとも1種の波長を含む光を処理した体液に照射する工程。

他の局面においては、本発明は、HIV感染患者または他の免疫機能不全患者を処置する方法であって、枯渇されるべき細胞を有する、患者の体液の少なくとも一部またはその画分を、有効量の光活性化合物で処理し、次いで照射する工程を包含する方法に係る。

さらに他の局面においては、本発明は、活性化白血球、HIV感染細胞、または遊離HIVが枯渇した白血球活性化血液、血漿、または他のサブ画分に係る。

本発明はまた、多発性硬化症および慢性関節リウマチの処置方法を提供する。

この方法は、光力学治療において一般的に用いられる技術を用いる。光活性化化合物を投与し、そして全身に分配する。次いで光活性化化合物によって吸収される光を被験体に照射する。

従って、1つの局面においては、本発明は多発性硬化症または慢性関節リウマチの症状を改善する方法であって、そのような改善を必要とする被験体に、上記被験体中に分配するに有効な量の光活性化化合物を投与する工程、上記分配を生じさせる工程、および上記光活性化化合物を活性化し、その毒性をもたらすに十分な強度で、上記光活性化化合物によって吸収される光を被験体に照射する工程を包含する方法に係る。

#### 図面の簡単な説明

図1Aおよび図1Bは、2人のHIV感染患者由来の血液中の種々のマーカー（B細胞、CD4<sup>+</sup>細胞、CD8<sup>+</sup>細胞、DR<sup>+</sup>細胞、およびIL-2R<sup>+</sup>細胞を含む）を有する白血球の種々のサブセットに対するGpおよび照射の効果を示す。

図2は、正常ドナー由来および2人のHIV感染患者由来の血液中の白血球のサブセットの相対濃度を示す。

図3Aおよび図3Bは、それぞれ、BPDでの処理および照射前後での、正常ドナー由来およびHIVドナー由来の血液中の白血球のサブセットの相対濃度を示す。

図3Cは、正常被験体およびHIV感染被験体の両方における、特にBPDでの処置および照射前後のIL-2R<sup>+</sup>細胞のレベルを示す。

図4は、BPDでの処置および照射による細胞関連HIVの不活性化を示す。

図5は、本発明に有用な種々のグリーンポルフィリンの一般的な構造を示す。

図6は、好ましいグリーンポルフィリン（特に、BPD-MA、BPD-MB、BPD-DAおよびBPD-DB）の構造を示す。

図7は、実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)の誘発後、PDT処置マウスおよび非処置マウスにおける疾患の発病度を対比するグラフである。

図8は、マウスにおけるEAEの誘発に対する経皮PDTの効果を示すグラフである。

図9は、マウスにおけるコラーゲン誘発性関節炎の発生率に対する、リポソー



ムBDP-MAを用いるPDTの効果を示すグラフである。

図10は、モデルにおいて異なる時間に行われた同様の処置の結果を示す。

#### 本発明の実施方法

本発明の方法はまた、異常に上昇したレベルの内因性細胞、または感染した内因性細胞を含有する体液（例えば、骨髓、血液またはその適切な画分）を、光活性化合物（例えば、グリーンポルフィリン化合物）で処理する工程、次いで光活性化合物によって吸収される光を上記体液または画分に照射する工程を包含する。本発明の方法は、種々のプロトコルで実施され得る。2つの最も重要な要素は、

- (1) 光活性化合物が、その集団を減少すべき細胞と会合すること、および
- (2) それらの細胞と会合する光活性化合物に、適切な波長が照射されることを確実にすることである。本明細書中で用いられるように、「体液」は枯渇されるべき高レベルの活性化白血球または他の細胞（例えば、HIV感染細胞）を含有する体液をいう。このような体液としては、代表的には、骨髓、血液、およびそれらの画分が挙げられる。

骨髓は、本発明の方法の基質として用いられ得る一方、患者の血液を使用することは、多くの場合より便利である。従って1つのプロトコルでは、全血を被験体から回収し、そして化合物が所望の標的細胞と会合し得るに十分な時間、適切な濃度の光活性化合物で処理する。生体外の容器または器具中で、適切な波長の光が全血に照射され得、次いで処理および照射した血液が患者に戻され得る。

患者から回収された血液はまた、画分（代表的には、赤血球画分および白血球富化血漿画分）に分離され得る。白血球含有血漿は、通常、血漿および赤血球（所望される場合）を患者の体に戻す前に光活性化合物で処理され、そして照射される。もちろん、画分への分離は、生体外処理中のいずれの時点でも行われ得る。そのため、光活性化合物はまた、赤血球および白血球富化画分に分離される前に全血に添加され得、次いで白血球富化画分のみが代表的に照射されることを必要とする。

あるいは、光活性化合物またはその混合物は、適切な処方法（代表的には注射によるが、他の投与経路（例えば、経口投与または経粘膜(transmucosal)投与）

にもよる)で患者に全身投与され得る。光活性化合物が血流に入るに十分な時間が与えられると、適切な線源が患者の体に付与され得る。例えば、カテーテルに挿入された(catheterized)光ファイバーデバイスが血流中の適切な位置に挿入され得るか、あるいは外部の経皮性露光が使用され得る。従って、血液または他の体液がインビボで照射され得る。

この本発明の処置に適切な被験体としては、血液中の高レベルの活性化白血球(例えば、DR<sup>+</sup>細胞、およびIL-2R<sup>+</sup>細胞)を有することを示すHIV感染患者が挙げられる。これらのレベルは、本発明の方法により選択的に減少され得る。高レベルのこれらの細胞を示すことが予想される他の患者としては、一般的に所望されない免疫活性化を示す患者(例えば、移植片対宿主反応による症状または、例えば、臓器移植または骨髄移植の結果としての臓器移植拒絶反応を患う患者)が挙げられる。移植のためには、ドナー臓器由来の流体、または患者レシピエント由来の流体のいずれかが処理され得る。他に考えられる被験体は、自己免疫性の病状(例えば、慢性関節リウマチ、エリテマトーデス、筋ジストロフィー、または重症筋無力症)を示す被験体である。

代表的には、光活性剤は、処理されるべき流体または流体画分中の最終濃度が、約0.05  $\mu\text{g/ml}$  ~ 5  $\mu\text{g/ml}$ 、好ましくは約0.1  $\mu\text{g/ml}$  ~ 1  $\mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは約0.5  $\mu\text{g/ml}$ となるような方法で投与される。次いで、処理された流体または流体画分に、任意の適切な光源(例えば、レーザーダイオード、発光ダイオード、光ファイバー伝導レーザー(fiberoptic-conducted laser)光など)からの光が照射される。

代表的な波長は、約600nm~790nm、好ましくは約630nm~710nm、そして最も好ましくは約790nm~780nmの範囲である。代表的な強度は、約1  $\text{J/cm}^2$  ~ 50  $\text{J/cm}^2$ 、好ましくは約5  $\text{J/cm}^2$  ~ 25  $\text{J/cm}^2$ 、そして最も好ましくは約8  $\text{J/cm}^2$  ~ 15  $\text{J/cm}^2$  のオーダーである。これらの強度に対して、約785nm~695nmの範囲の波長が好ましい。

照射は、通常、光活性剤の特性および濃度、処理される流体の量、処置に対する患者の細胞の感受性、光の強度および波長、ならびに照射方法(インビボ、またはエクスピボ)に依存して、約2分~180分、好ましくは約15分~120分続けら

れる。光活性化化合物の濃度および照射パラメータの適切な最適化は、当業者に周知である。

1つの実施態様においては、本発明は、病気の(afflicted)被験体における多発性硬化症および慢性関節リウマチの症状を改善し、そして一般にそれらの病状を処置するプロトコルを提供する。以下の実施例は、これらの病状の光力学処置が成功することを立証する。これらの各病状について広く認識されたモデル系は、好結果の応答を示す。これらの説明において記載されているパラメータによって、例証されるモデルと類似する病状を処置すべきヒト被験体に対して好結果のプロトコルを設計することが可能になる。

さらに詳細には、本発明に有用な光活性剤としては、電磁放射線（好ましくは、この放射線は、紫外範囲または可視範囲の波長を有する）に曝されることによって活性化される場合に、選択的な細胞障害効果を示す任意の化合物（好ましくは有機化合物）が挙げられる。活性化照射は、分子中の1以上の酸素原子を励起し、1重項酸素状態を形成すると考えられている。励起した1重項酸素は、短時間しか存在しないが、標的細胞の細胞壁を攻撃するには十分な長さであり、これにより標的白血球の選択的壊死が生じる。

例えば、ブソラレンはUV光によって活性化され、そして種々のヘマトポルフィリン誘導体が、可視光線の照射時に活性化される。他の光活性剤としては、フタロシアニンおよび修飾ポルフィリン（例えば、クロリン）が挙げられる。しかし、特に好ましい光活性剤としては、グリーンポルフィリン化合物（「Gp化合物」）、特に図5に示す構造、より特定すると図6に示す構造が挙げられる。

本発明のGp化合物は、プロトポルフィリン-IX環系（環AおよびB）中に存在する2つの利用可能な共役非芳香族ジエン構造のうちの1つだけで反応がもたらされる条件下で、アセチレン誘導体とプロトポルフィリンとのディールスーアルダー反応によって得られるポルフィリン誘導体の群から選択される。図5に示す式は、本発明の代表的なGp化合物を表している。これらの化合物は図5に示され、水素が内部の環窒素を占有している。しかし、金属化形態（ここでは、カチオンがこれらの水素の1つまたは両方を置換する）が用いられ得ることが理解され

る。これらの化合物は、構造内の1以上の原子を、その放射性形態により置換するか、あるいは放射性同位体（例えば、放射性金属、ヨウ素の放射性同位体）に結合す

ることにより標的化され得ることもまた理解される。

都合上、用語ヒドロモノベンゾポルフィリン誘導体の略語「BPD」を、一般に、図5の式3および式4のGp化合物をいうために用いる。BPDは本発明のGp化合物の特に好ましい形態である。さらに、Gp化合物のダイマー形態が提供され得、これにより1モルあたりを基準にして、Gp化合物の光を吸収する能力が増強され得る。さらなる吸収波長が提供された場合、Gp/ポルフィリンの組み合わせのダイマーおよび多量体形態もまた用いられ得る。

本明細書中でGp化合物と呼ばれる修飾ポルフィリンは、標的と反応する特定のリガンド（例えば、レセプター特異的リガンド、免疫グロブリン、または免疫グロブリンの免疫特異的部分）に結合し得、これにより修飾ポルフィリンを、所望の標的組織または物質中でさらに濃縮させることが可能となる。この結合によって、必要とされる用量レベルをさらに低下させることも可能となる。なぜなら、この物質は、その破壊（これは、所望されない）を避けなければならない他の組織への分配により消費されないからである。

Gp化合物が可視吸収範囲の光を用いてインサイチュで照射される場合、光活性化は、周囲組織に対する細胞障害性を生じる。吸収スペクトルは、より短い波長も含むが、670nm～780nmの範囲の特に有用な吸収極大がある。

一般に、吸収波長の位置は、代表的なポルフィリン系を構築する4つのピロール環のうちの1つ（2つではない）において2つの $\pi$ 結合のうちの1つを効果的に飽和させることによって達成される。プロトポルフィリン-IXにおいて、2つのピロールは、ビニル置換を含有し、環外の $\pi$ 結合は、環の2つの $\pi$ 結合の1つと共役する。これらの共役系の1つとアセチレン誘導体ジエノフィルとに関連するディールス-アルダー反応は、縮合シクロヘキサジエン（本明細書中では「ヒドロベンゾ」といい、図5の式1および2に示すように、A環またはB環に縮合している）を生じる。ヘキサジエン環における $\pi$ 系の転位は、式3および式4の

化合物を生じ、そして還元により図5の式5および6の化合物が提供される。すべてのこれらの化合物は、吸収極大の所望の深色シフトを提供する。

本発明に特に有用なGp化合物の具体的な調製は、上記の米国特許第5,095,030号（これは、本明細書中に参考として援用される）に詳細に記載されている。

図5および図6に示す化合物について、一般的には、 $R^1$  および  $R^2$  はそれぞれ独立して、適度の電子吸引性置換基であり、そして最も一般的にはカルバルコキシ、またはアルキルまたはアリールスルホニル、または任意の他の活性化置換基であり、この活性化置換基は、シアノまたは  $-CONR^5CO-$ （ここで、 $R^5$  はアリールまたはアルキルである）のような、A環およびB環のうちのただ1つと反応するよりむしろA環およびB環の両方と反応するに十分に電子吸引性ではない。 $R^1$  および  $R^2$  のうち1つは、必要に応じてHであり得、他方はディールススーアルダー反応を促進するに十分な強さの電子吸引置換基である。

本明細書中で用いられるように、カルボキシは、通常定義されるように、 $-COOH$  である。カルバルコキシは、 $-COOR$ （ここで、Rはアルキルである）であり、カルボキシアルキルは、置換基  $-R'-COOH$ （ここで、 $R'$  はアルキレンである）をいい、そしてカルバルコキシアルキルは、 $-R'-COOR$ （ここで、 $R'$  および R はそれぞれアルキレンおよびアルキルである）をいう。アルキルは、1個～6個の炭素原子の飽和直鎖または分枝鎖ヒドロカルビル（hydrocarbon）基（例えば、メチル、n-ヘキシル、2-メチルペンチル、t-ブチル、n-プロピルなど）をいう。アルキレンは、基が2価であること以外は、アルキルと同様である。アリールスルホニルまたはアルキルスルホニル部分は、式  $SO_2R$  を有し、ここでRは上記で定義された通りのアルキルであるか、またはアリールであり、ここで、アリールはフェニルであり、必要に応じてハロ（フルオロ、クロロ、ブロモ、またはヨード）、低級アルキル（1-4C）および低級アルコキシ（1-4C）から独立して選択される1個～3個の置換基で置換されている。さらに、 $R^1$  または  $R^2$  のうちの1つまたはその両方は、それ自体がアリール（すなわち、フェニルであって、必要に応じて上記で定義されたように置換されている）であり得る。

図5に示すように、 $R^1-C \equiv C-R^2$  とプロトポルフィリン-IX環系（ここで、 $R^3$  は2-カルボキシエチルの保護形態（例えば、2-カルボメトキシエチルまたは2-カルボエトキシエチル）であり、そして $R^4$  は $-CH=CH_2$ である）との反応により形成される付加物は、式1および式2の化合物である。式1の化合物は、A環への付加により生じ、そして式2はB環への付加により生じる。式1および2のこれらの得られた生成物においては、 $R^4$  は $-CH=CH_2$ のままである。し

かし、このビニル基は、式1の環Bまたは式2の環Aのビニル環置換基への付加または酸化により、 $R^4$  の他の実施態様に容易に誘導化される。これらの付加生成物または酸化生成物は、付加された置換基が官能性脱離基である場合、さらに置換され得る。例えば、 $-Br$  は $-OH$ 、 $-OR$ （ここで、 $R$  は上記の通り1～6Cのアルキルである）、 $-NH_2$ 、 $-NHR$ 、 $-NR_2$  などにより置換され得る。しかし、好ましい実施態様においては、付加された置換基の1つは水素であり、そして他方はハロ（フルオロ、クロロ、ブロモ、またはヨード）、ヒドロキシ、低級アルコキシ、アミノまたはアミド、およびスルフヒドリルまたは他の有機スルフィド基からなる群から選択されるか、あるいはそれ自身が水素であり得る。ビニル基への付加は、得られる化合物の吸収スペクトルを容易に感知できるほど変化させない。例えば、水のマルコフニコフ付加生成物は、関連する環でのヘマトポルフィリン環系の置換基構造に類似する置換基構造を提供する。従って、本発明の化合物は、以下でさらに記載されるように、 $R^4$  として種々の群（さらなるポルフィリンまたはさらなるポルフィリン関連環系を提供する置換基を含む）を含む。

プロトポルフィリン-IXの $R^3$  は、2-カルボキシエチル( $-CH_2CH_2COOH$ )である。しかし、 $R^3$  の性質は（ $R^3$  が環の $\pi$ 結合と共役した $\pi$ 結合を含有しない場合）、ディールス-アルダー反応の進行または得られる生成物の効力および吸収スペクトルに通常関連しない。従って $R^3$  は、例えば、低級アルキル(1-4C)、1-カルボキシアルキル(2-6C)、あるいはそれらのエステルまたはアミドであり得る。 $R^3$  置換基はまた、上記の通り定義されたハロゲン、または他の非反応性置換基で置換され得る。しかし、本発明のGp化合物のために特に便利な出発物質は

、天然に存在するポルフィリン（好ましくは、ここで $R^3$ は $-CH_2CH_2COOH$ または $-CH_2CH(R_2)COOR$ であり、 $R$ はアルキル(1-6C)である）である。

本発明のBPD化合物においては、 $-CH_2CH_2COOR$ のエステル化カルボキシ基を加水分解または部分的に加水分解することが有利であることが見出されている。加水分解は、 $R^1$ および $R^2$ のエステル基（存在する場合）の加水分解よりもずっと速い速度で起こり、そして得られた化合物の溶解度および生物学的分

配(biodistribution)特性は、代表的には、非加水分解形態の特性よりも好ましい。加水分解により、二酸または一酸生成物（またはその塩）が生じる。

上記の引用文献に記載されたディールスーアルダー反応から直接得られるヒドロモノベンゾポルフィリンもまた、図5に式3および式4として示す式を有する化合物に異性化し得る。

図5の式3および式4の記載は、 $R^2$ 置換基に関して、環外メチル基（式3の環Aおよび式4の環B）の相対位置を示していない。いずれの異性体も利用可能である。

さらに、ディールスーアルダー生成物は、例えば、パラジウムチャコールの存在下にて水素で処理することにより選択的に還元され得、飽和環アナログ（図5に式5および式6として示す）が得られ、これらはそれぞれ環Aおよび環Bのディールスーアルダー生成物に対応する。これらの還元生成物は、本発明の方法において、式1～4の化合物より一般的により好ましくない実施態様であり、そして一般的により有用ではない。

残存ビニル置換基（ $R^4$ ）の変換による式1および式2の化合物の誘導体化に関して、および $R^3$ の変化に関して上記に示す記載は、式3、4、5、および6の化合物に対しても同様に適用される。

式3および式4の化合物（BPD）、特に加水分解されたおよび部分的に加水分解された $R^3$ のカルバルコキシ基を有する化合物が最も好ましい。 $-COOH$ 基を含有する本発明の化合物は、遊離酸としてか、あるいは有機塩基または無機塩基との塩の形態で調製され得る。

図5の化合物の多くは、少なくとも1つのキラル中心を有し、従って光学異性

体として存在することに注意すべきである。本発明の結合体および方法としては、両方のキラル炭素の配置を有する化合物が挙げられ、これはこの化合物が単一の立体異性体の単離体として、あるいはエナンチオマーおよび／またはジアステレオマー混合物として供給されるかを問わない。ジアステレオマー混合物の分離は、任意の通常の方法によって行われ得る。エナンチオマー混合物は、光学活性調製物と反応させ、そして得られたジアステレオマーを分離する通常の方法によって分離され得る。

さらに、反応生成物は、A環およびB環の付加物の分離されていない混合物（例えば、式1および式2、または式3および式4、あるいは式5および式6を有する化合物の混合物）であり得ることにさらに注意すべきである。分離形態（すなわち、式3単独、あるいは式4単独）または任意の比の混合物のいずれかが、本明細書に記載される治療方法および診断方法に用いられ得る。

図6は、本発明の特に好ましい4つの化合物を示し、これらは当該分野で以前に記載されていない。これらの化合物は、式3または式4を有するGp化合物の形態であるように、ベンゾポルフィリン誘導体（BPD）と集合的に命名される。これらは式3および式4の転位生成物の加水分解形態または部分的加水分解形態であり、ここで $R^3$ の保護カルボキシ基の1つまたは両方は、加水分解されている。 $R^1$ および $R^2$ のエステル基は、比較的ゆっくりと加水分解する。このため、図6に示す形態への転化は、容易に行われる。

この記載について、 $R^3$ は $-CH_2CH_2COOR^3$ である。図6に示すように、式BPD-DAの好ましい化合物において、各 $R^3$ はHであり、 $R^1$ および $R^2$ はカルバルコキシであり、そして誘導体化は環Aで生じる。好ましいBPD-DB化合物は、誘導体化が環Bで生じる対応化合物である。BPD-MAは、BPD-DAの部分的加水分解形態を表し、そしてBPD-MBはBPD-DBの部分的加水分解形態を表す。従って、これらの後者の化合物においては、 $R^1$ および $R^2$ は好ましくはカルバルコキシであり、1つの $R^3$ は好ましくはHであり、そして他の $R^3$ は好ましくはアルキル(1-6C)である。式BPD-MAおよび式BPD-MBの化合物（ここで、C環のカルバルコキシエチルのみ、またはD環のカルバルコキシエチルのみが加水分解される）は均質であ



り得るか、あるいはC環およびD環置換基の加水分解物の混合物を含有し得る。さらに、BPD-MA、-MB、-DA、および-DBの任意の2以上の混合物は、本発明の方法で用いられ得る。

$R^4$  がビニル以外であるか、または  $R^3$  が非天然(non-native)置換基である特定の他の実施態様もまた、本発明に有用なGp化合物の記載に含まれることが意図される。

一般に、各  $R^1$  および  $R^2$  は独立して、カルバルコキシ(2-6C)、アルキル(1-6C)スルホニル、アリール(6-10C)スルホニル、アリール(6-10C)；シアノ；および

-CONR<sup>5</sup>CO- (ここで  $R^5$  はアリール(6-10C)またはアルキル(1-6C)である) からなる群から選択され；

各  $R^3$  は独立して、アルキル(1-6C)、カルボキシアリール(2-6C)、またはそれらの塩、アミド、エステル、またはアシルヒドラゾンであり；そして

$R^4$  は、-CHCH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>OR<sup>4'</sup>、-CHO、-COOR<sup>4'</sup>、-CH(OR<sup>4'</sup>)CH<sub>3</sub>、-CH(OR<sup>4'</sup>)CH<sub>2</sub>OR<sup>4'</sup>、-CH(SR<sup>4'</sup>)CH<sub>3</sub>、-CH(NR<sup>4'</sup><sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>、-CH(CN)CH<sub>3</sub>、-CH(COOR<sup>4'</sup>)CH<sub>3</sub>、-CH(COOCR<sup>4'</sup>)CH<sub>3</sub>、-CH(H(ハロ))CH<sub>3</sub>、または-CH(H(ハロ))CH<sub>2</sub>(ハロ)であり、ここで  $R^{4'}$  はHまたはアルキル(1-6C)であり、必要に応じて親水性置換基で置換されているか、あるいは

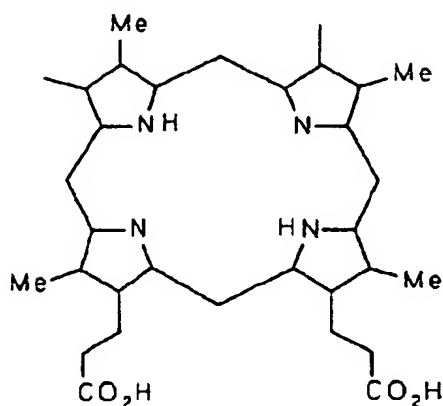
ここで  $R^4$  は、直接的または間接的なビニルの誘導体化により生じる12C未満の有機基であるか、あるいは

ここで  $R^4$  は、本明細書中に定義される通りの式-L-Pの1個～3個のテトラピロール型の環を含有する基である。

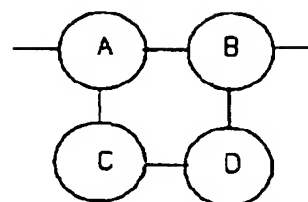
図5の式3および式4の化合物およびそれらの混合物が特に好ましい。 $R^1$  および  $R^2$  が同一であり、そしてカルバルコキシ、特にカルボエトキシである化合物もまた、好ましい。 $R^4$  が-CHCH<sub>2</sub>、-CH(OH)CH<sub>3</sub>、-CH(H(ハロ))CH<sub>3</sub>、または式-L-P (以下で定義) の1個～3個のテトラピロール型の環を含有する基である化合物もまた、好ましい。

本明細書中で用いられるように、「テトラピロール型の環」は、以下の骨格の

4 環系、またはこれらの塩、エステル、アミド、またはアシルヒドラゾンを示し、これらは高度に共役している：



これは次のように省略される

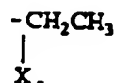


テトラピロール型の環としては、実際には完全に共役した系であるポルフィリン系；実際にはポルフィリンのジヒドロ形態であるクロリン系；および完全に共役した系のテトラヒドロ形態である還元クロリン系が挙げられる。「ポルフィリン」が特定される場合、完全に共役した系が示される。「Gp化合物」は、実際にはポルフィリン系のジヒドロ形態を意味する。

1つの実施態様において、置換基  $R^4$  としては、少なくとも1つのさらなるテトラピロール型の環が挙げられる。本発明の得られた化合物は、ダイマーまたはオリゴマーであり、ここで少なくとも1つのテトラピロール型の環系は、Gp化合物である。 $R^4$  の位置を介するGp部分とさらなるテトラピロール型の環系との間の結合は、エーテル、アミン、またはビニル結合を介し得る。 $R^4$  に対応する2つの利用可能な置換基位置（A環およびB環の両方中）を有するポルフィリン環系のさらなる誘導体はまた、さらに以下に記載されているように形成され得る。

上記のように、図5の式を有する化合物としては、 $R^4$  が、最初のGp化合物のビニル基への付加により形成される化合物が挙げられる。従って、 $R^4$  は容易な付加反応により形成される任意の置換基であり得る。従って、両方の付加された置換基は、例えば、-OHまたはハロであり得、そしてこれらの置換基はさらに

置換され得る。あるいは、付加剤は、HXの形態であり得、ここでHは環に隣接する炭素に付加し、下式のR<sup>4</sup>を提供する：

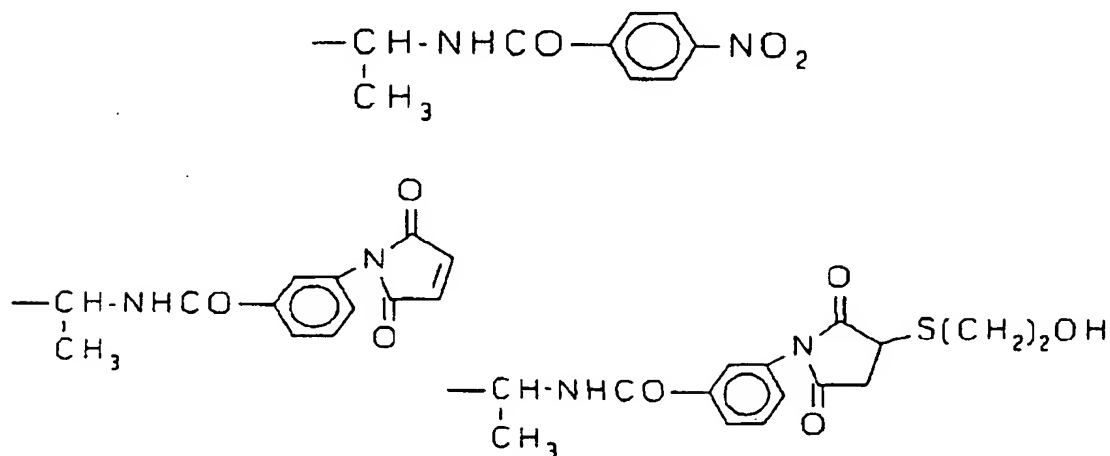


。

ビニル基はまた、酸化され得、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CHO}$ 、または $-\text{COOH}$ およびその塩ならびにエステルとしてR<sup>4</sup>が得られる。

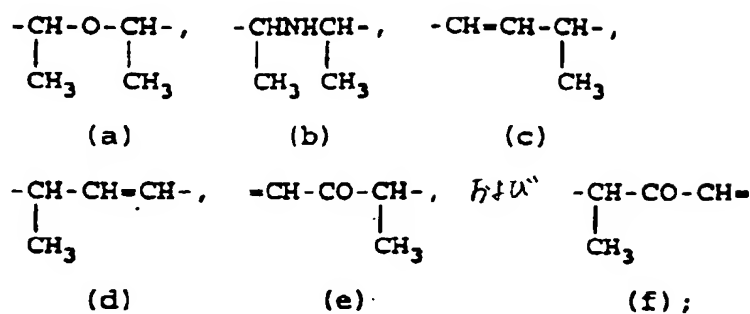
従って、一般的には、R<sup>4</sup>は、ビニル基 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ が、開裂反応または付加反応によって容易に転換される任意の置換基および脱離基とさらなる部分との反応のさらなる生成物を表す。代表的なR<sup>4</sup>置換基としては、以下が挙げられる：

$-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{イミダゾール})\text{CH}_3$ 、

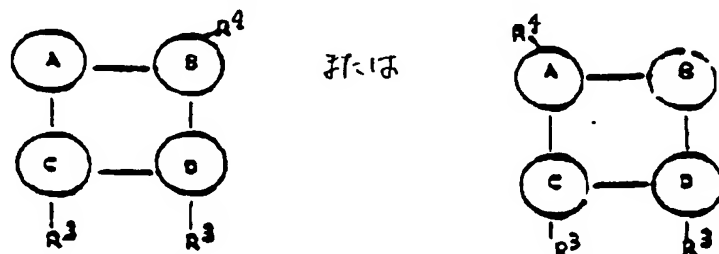


$-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CHBrCH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{ピリジニウムブロマイド})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{SH})\text{CH}_3$ およびそのジスルフィド、 $-\text{CHOHC}_2\text{H}_4\text{OH}$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{COOH}$ 、ならびに $-\text{COOCH}_3$ 。

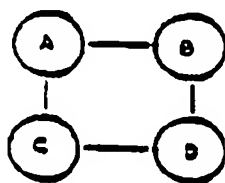
R<sup>4</sup>が-L-Pである場合、式「-L-P」の置換基は、-L-が以下からなる群から選択される置換基を示し：



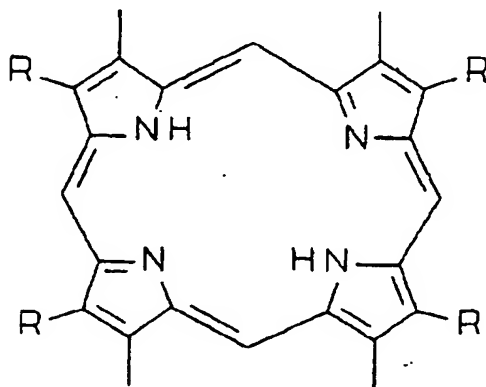
そしてPはGp（ここでGpは図5に示す式1～式6のうちの1つを有するが、 $R^4$ を欠き、そして図5に示す $R^4$ により占有されている位置を介してLに結合する）および下式のポルフィリンからなる群から選択され：



ここで、 $R^3$  および  $R^4$  は上記で定義された通りであり、そして非占有結合はLに結合している。以下の省略形：



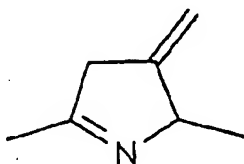
は下式のポルフィリン：



（ここで各Rは独立して、Hまたは低級アルキル（1-4C）である）を示すことが

理解される。

(-L-が式(e)または(f)である場合、二重結合が結合する環系は、示すように二重結合が結合する環において、以下に対応する共鳴系を有することもまた理解される



。)

#### ダイマーおよびオリゴマーの調製

本発明のダイマーおよびオリゴマー化合物は、ポルフィリンのダイマー化およびオリゴマー化のための反応と本質的に類似している反応を用いて調製され得る。Gp化合物またはグリーンポルフィリン/ポルフィリン結合は、直接作製され得るか、あるいはポルフィリンが最初に結合され得、次いで対応するGp化合物へ変換

するために、末端ポルフィリンのいずれかまたは両方のディールススーアルダー反応が行われる。

多発性硬化症の総体的症状を示す被験体、特にヒト被験体の処置のために、グリーンポルフィリン化合物またはこれらの混合物のような光活性化合物は、代表的には注射により全身的に投与される。注射は、筋肉内、静脈内、皮下、腹腔内、または任意の他の認識された注射経路であり得る。全身性投与の他の手段もまた、用いられ得る。例えば、経粘膜投与は、胆汁酸塩またはフシジン酸塩のような賦形剤を用いてなされる。適切な製剤を用いる投与の経皮および経口経路もまた、利用可能である。しかし、注射のうち、特に、リポソーム組成物の形態における注射が好ましい。

投与される光活性化合物の量は、患者の病状、医師の判断、病状の段階、投与経路、および、もちろん光活性剤の性質に依存する。代表的なヘマトポルフィリン誘導体型の光活性剤、特にポルフィマーナトリウム(porfimer sodium)につい

て、適切な用量範囲は、体重1 kgあたり0.01mg～30mgであり、好ましくは0.1mg～5 mgである。BPD-MAのような代表的なグリーンポルフィリンについて、代表的な用量範囲は、体重1 kgあたり0.005mg～5 mgであり、好ましくは0.05mg～1 mgである。これらの用量範囲は、単に代表的であり、外側の限度を規定することを意図するものではない。例証されるこの2つの光活性化合物は、無毒であり、被験体はこの化合物に良好に耐性であり得る。

用いられる製剤は、投与様式で異なり、注射の場合、代表的な調製物は、生理食塩水、緩衝液、および他の賦形剤を含む。リポソームまたは他のリポ複合体が好ましい。一般に、治療剤の投与に適切な製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences、最新版、Mack Publishing Company、Easton、PAにおいて見出され得る。

光活性剤の投与は、被験体における多発性硬化症の病状が確認されるとすぐに始められ得る。代表的には、四肢における刺痛のような初期の総体的症状に応じて、被験体は、CATスキャンにより診断され、そしてこの病状を有することが確認される。光を用いる特定の処置の前に、単回投与または繰り返し投与のいずれかが使用され得る。繰り返し投与が用いられる場合、それらは、一般的に、0時

点でのように、集合的に作用するために繰り返し投与し得るよう各々約30分以内である。しかし、単回投与が好ましい。

次いで、光活性剤は、被験体内で分配され得る。「分配」とは、十分な時間が経過して、光活性剤が、もはや投与部位に局在化しないことを意味する。経皮照射がしばしば用いられるので、光活性剤がほとんど皮膚から除去されるまで待つが、しかし全身レベルの光活性化合物が除去される前には光処置が施されることが好ましい。

上記のように、本来、光活性剤は、正常組織から除去され得るべきであり、そして照射前には望ましくない細胞または組織内に蓄積され得るべきであると考えられていた一方で、米国特許出願番号第07/979,546号(本明細書中で参考として援用される)に記載されるように、光力学治療をもたらすに十分な分配をし得るには、より短い間隔で充分であることが見出されている。従って、本出願では、

被験体において光活性剤を分配するために必要とされる時間は、約4時間～7時間であると予想される。一般的に、光活性剤では、30分～2 1/2時間の期間にわたり皮膚内の濃度が増加し、約3時間で最高に達する。実質的な量が投与後7時間で全身から除去される。従って、光照射のために理想的な時間は、薬剤の投与後4時間～7時間の範囲内である。

分配が起こった後、被験体に、光活性剤により吸収される波長を含む光を照射する。患者は、経皮放射に供され得る。光活性剤の吸収スペクトルは、用いる波長について有益である。必要とされる強度は、波長バンドの幅に依存するが、代表的な強度は、 $1 \text{ J/cm}^2 \sim 500 \text{ J/cm}^2$ 、好ましくは約  $5 \text{ J/cm}^2 \sim 250 \text{ J/cm}^2$ 、そして最も好ましくは約  $10 \text{ J/cm}^2 \sim 50 \text{ J/cm}^2$  の程度である。この照射は、光活性剤の性質および血流内での濃度ならびに処置に対する感受性に依存して、約2分～180分間、好ましくは、約15分～120分間、続けられる。

一般的に、多発性硬化症および他の免疫機能不全の徴候を示す被験体は、1回または数回、光力学処置で処置され得る。この光力学処置は、光活性剤の投与、光活性剤の分配の許容、および被験体への照射から構成される。この被験体は、病状に対する光力学治療の効果をモニターされ、必要であるなら、この治療に再度供される。この病状が多発性硬化症である場合、そのようなモニターリングは、

CATスキャンを用いて最も好都合に行われる。

光活性剤の全身性投与および経皮照射の提供に代わるべき手段として、この患者の血流が生体外で処置され得る。全血または適切な画分（例えば血漿）のいずれかが処理され得る。この場合、光活性剤は、用いられる光活性剤に対して適切な、処理されるべき流体中の最終濃度をもたらすよう投与される。BPD-MAについて、例えば、代表的な濃度は、約  $0.05 \mu\text{g/ml} \sim 5 \mu\text{g/ml}$  であり、好ましくは約  $0.1 \mu\text{g/ml} \sim 1 \mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは約  $0.5 \mu\text{g/ml}$  である。これらの状況下で、光活性剤の分配のための時間は、必要とされない。次いで、この流体に、例えば、レーザーダイオード、発光ダイオード、光ファイバー伝導レーザー光などのような任意の適切な供給源からの光を照射する。上記のような波長は、光活性

剤の吸収スペクトルに依存し、そして光強度は上記の通りである。一般的には、照射は、経皮放射の場合と同様の時間、継続される。

上述のように、血液の適切な画分だけが、処理される必要がある。分画はプロセスの任意の段階で実施され得る。従って、光活性剤を全血に添加し、次いでこの血液を分画し、そして適切な画分に照射し得る。あるいは、この血液をまず分画し、次いで光活性化合物を添加し、そしてこの画分を光で処理し得る。画分または回復した全血のいずれかは、患者に戻され得る。一般的に、この適切な画分は、白血球を含む。従って、代表的な手順において、血漿だけが、処理され、そして戻される必要がある。

従って、多発性硬化症を患う被験体の処置のための代表的なプロトコルは、以下の工程を包含する：リポソーム調製物として製剤化される約35mgのBPD-MAを、多発性硬化症の症状を示す被験体に静脈内注射する工程。次いで、この被験体に2つの時点のうち1つで照射する：「初期処置」は注射後約0.5時間～2.5時間で行われ、そして「後期処置」は注射後約5時間～7時間で行われる。この被験体に、 $690\text{nm} \pm 10\text{nm}$ の波長の赤色光を約30分間照射する。初期処置について、この強度は、 $\text{約}10\text{J}/\text{cm}^2 \sim 50\text{J}/\text{cm}^2$ の間であり、より好ましくは $\text{約}15\text{J}/\text{cm}^2 \sim 25\text{J}/\text{cm}^2$ の間であり、最も好ましくは $\text{約}20\text{J}/\text{cm}^2$ である。後期処置について、この強度は、 $\text{約}150\text{J}/\text{cm}^2 \sim 250\text{J}/\text{cm}^2$ の間であり、より好ましくは $\text{約}200\text{J}/\text{cm}^2$ である。次いで、この患者を光力学治療の結果についてモニターする。

慢性関節リウマチの処置について、同様のパラメーターが重要である。以下の実施例2におけるモデルは、ヒトの慢性関節リウマチの作用の予測となる。この病状に関連して、全身性または局所性処置のいずれかが用いられ得る。全身性処置は、一般的に、全体として疾患を攻撃することにおいて成果が上がり、一方、関節の局所処置は、この症状を検討する。

全身性処置のために、代表的には注射が用いられる。注射は、筋肉内、静脈内、皮下、腹腔内、または任意の他の認識された注射経路であり得る。上記のような経口、経粘膜、および経皮を含む全身性投与の他の方法が、用いられ得る。局所投与のために、光活性化合物が疾患関節に直接注射され得る。投与されるべき



光活性化化合物の量は、患者の病状、医師の判断、病状の段階、投与経路、および、もちろん光活性剤の性質に依存する。代表的なヘマトポルフィリン誘導体型の光活性剤、特にポルフィマーナトリウムについて、およびBPD-MAのような代表的なグリーンポルフィリンについて、適切な用量範囲は、多発性硬化症の処置についての上記と同程度の範囲である。用いられる製剤は、投与様式で異なり、注射の場合、代表的な調製物は、生理食塩水、緩衝液を含み、そして注射が投与経路として用いられる場合、リポソームまたは他のリポ複合体を含む製剤が好ましい。これらの治療剤の投与に適切な製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences、最新版、Mack Publishing Company、Easton、PAにおいて見出され得る。

光活性剤の投与は、被験体における慢性関節リウマチの病状が確認されるとすぐに始められ得る。上記のように、光を用いる特定の処置の前に、単回投与または繰り返し投与のいずれかが用いられ得る。一般的には、全身性投与のために、光活性剤の単回投与が好ましい。局所注射のために、ごく短い時間での光活性剤の繰り返し投与が必要とされ得る。

全身性投与が用いられる場合、次いで、光活性剤は、被験体において分配され得る。「分配」とは、十分な時間が経過して、光活性剤がもはや投与部位に局在化しないことを意味する。上記に説明されるように、本来、光活性剤は、正常組織から除去され得るべきであり、そして照射前には望ましくない細胞または組織内に蓄積され得るべきであると考えられていた一方で、米国特許出願番号第07/979,546号(本明細書中で参考として援用される)に記載されるように、光力学治療

をもたらすに十分な分配をし得るには、より短い間隔で充分であることが見出されている。経皮照射が利用される場合、この時間は、多発性硬化症の処置についての上記の通りである。局所性照射が、例えば、それ自体関節に挿入されるレーザー結合(laser-connected)光ファイバーにより直接的に関節に用いられる場合、関節で光活性剤の十分な濃度を得るために十分な時間が必要なだけである。これは、一般的には約30分後であるが、他の時間も同様に用いられ得る。光活性剤の局所投与が用いられる場合、もちろん光の投与は、ほとんど即座に行われ得る。

多発性硬化症の処置について上記のように、血流の生体外処置もまた、用いられ得る。上記の病状は、ここでも同様に適用可能である。

分配が起こった後、適切な時間でこの被験体に光活性剤により吸収される波長を有する光を照射する。光活性剤の吸収スペクトルは、用いる波長について有益である。経皮照射について、上記の強度および時間が適用される。関節の局所性照射について、この照射は、より小さい関節の場合、経皮で行われるか、またはより大きな関節の場合、光ファイバーを用いて侵襲的に行われ得るかのいずれかである。この強度と時間は、経皮照射の場合と同様である。

生体外処置について、このパラメーターは、多発性硬化症の場合の上記の通りである。

従って、慢性関節リウマチを患う被験体の処置のための代表的なプロトコルは、以下の工程を包含する：リポソーム製剤に処方される約3mgのBPD-MAを、慢性関節リウマチの症状を示す被験体の関節に、直接注射する工程。その直後に、関節に、 $690\text{nm} \pm 10\text{nm}$ の光を $25\text{J}/\text{cm}^2$ で約15分間照射する。次いで、この患者を、光力学治療の結果についてモニターする。

以下の実施例は、本発明を例示することを意図するか、本発明を限定することを意図しない。

### 実施例 1

#### 種々の白血球のBPDおよび照射に対する応答

HIVに感染したことを示す2名の患者から血液を採血した。各患者由来の全血を、BPD-MAを用いて種々の濃度レベルにし、次いで、LEDから発せられる690nmの

光を用いて $10.8\text{J}/\text{cm}^2$ で4分間にわたって光を照射した。T細胞の種々のサブセットの集団を、未処置コントロールと比較してフローサイトメトリーにより評価した。存在する細胞の割合を、コントロールの割合と同様に評価し、次いで、BPD-MA濃度の関数としてプロットした。

得られた結果を図1Aおよび1Bに示す。示すように、B細胞および $\text{CD4}^+$ 細胞を含むほとんどの細胞集団は、比較的一定に保持された。 $\text{CD8}^+$ 細胞および $\text{DR}^+$ 細胞において、わずかな減少が見られた。 $\text{IL-2R}^+$ 細胞は、図1Aにプロットされる患者の

結果について劇的な減少を示し、そしてこの減少は、用いられるBPD-MAの用量に依存した。

図1Aに示すように、 $IL-2R^+$  細胞は、劇的に減少したが、 $CD8^+$  細胞および $DR^+$  細胞についての有意な減少もまた、観察された。 $DR^+$  細胞に対する効果を、第2の患者について、図1Bにより劇的に示す。

同様の研究を、被験体として1名の正常個体および2名のHIV患者を用いて、一定濃度のBPD-MA( $0.5 \mu g/ml$ )を用いて行った。図2は、これらの3つのドナーから得られる未処理の血液中の白血球のサブ集団(sub-population)を示す。図2に示すように、B細胞およびナチュラルキラー細胞は、正常被験体およびHIV被験体において、ほぼ同じレベルで生じた。しかし、ARC患者は、矛盾無く、 $CD4^+$  レベルの低下、ならびに $CD8^+$ 、 $DR^+$ 、および $IL-2R^+$  レベルの上昇を示した。

図3A、3B、および3Cは、本発明の処置の効果を示す。図3Aに示すように、正常血液中の白血球サブ集団の処理は、示されるいずれの集団に対してもほとんど効果を有しなかった。図3Bは、HIV感染血液をこの処理に供した場合、 $CD8^+$  のわずかな減少、 $DR^+$  のわずかな減少、および $IL-2R^+$  細胞の有意な減少があったことを示す。図3Cは、正常被験体および2名のHIV感染被験体の両方について、特に $IL-2R^+$  細胞に対するこれらの結果を示す。再度、劇的な減少が観察された。

従って、 $690nm$ を中心にした $10.8J/cm^2$ の光の存在下、 $0.5 \mu g/ml$ のBPDで4分間処置した後、正常被験体におけるすべての細胞タイプの細胞集団、およびHIV被験体における $IL-2R^+$ を除くすべての細胞タイプは、比較的一定のままであった。 $DR^+$  および $CD8^+$  細胞は、わずかに減少した。BPD/光処置は、白血球の大部分のサブクラスに対して、ほとんどまたは全く効果を有しないようであった。しかし、

$IL-2R^+$  細胞の上昇したレベルは、正常に回復した。

### 実施例 2

HIV患者由来の全ヒト血液もまた、実施例1に示すプロトコルと同様のプロトコルにおいて、種々の濃度のBPDおよび種々の光強度を用いて処理に供した。細胞結合HIVの不活性化に対する効果を試験した。得られた結果を、図4に示す。示すように、 $13J/cm^2$ の強度は、約 $0.5 \mu g/ml$ 以下のBPD濃度でウイルスの劇的な

不活性化を生じた。より低い放射強度は、ウイルスを完全に不活性化するためにより高い濃度のBPDを必要とした。

### 実施例 3

CEM細胞の組織培養において、遊離HIV(LAV-1株)を不活性化する能力もまた、試験した。このアッセイにおいて、LAV-1株を組織培養培地内で希釈し、そして0.25  $\mu\text{g/ml}$  または0.5  $\mu\text{g/ml}$  のいずれかの濃度でBPDを添加した。この培地を1時間インキュベートし、そして690nmを中心とし、かつ10.8J/cm<sup>2</sup>の強度の照射に3分間曝した。次いでこの培地をCEM細胞に添加し、そして培養の6日後に、細胞を標準p24アッセイを用いてアッセイした。この結果をpg/mlに換算して読みとった。

得られた結果を、以下の表1に要約する。示すように、高レベルのp24を提供したLAVの希釈では、BPD濃度が0.25  $\mu\text{g/ml}$  または0.5  $\mu\text{g/ml}$  のいずれかであるBPDでの処置は、測定されるp24のレベルを実質的に低下させ得た。

表1

LAV-1 希釈	$\bar{x}$ pg/ml (p24)		
	処置 薬剤なし 光なし	処置 .25 $\mu$ g BPD 3分	処置 .5 $\mu$ g BPD 3分
$10^{-1}$	>616	23.2	14.2
$3 \times 10^{-2}$	>616	18.2	14.5
$5 \times 10^{-2}$	>616	15.1	11.4
$7 \times 10^{-2}$	>616	8.9	7.6
$9 \times 10^{-2}$	>616	7.6	5.4
$10^{-3}$	>616	4.5	7.0
$3 \times 10^{-3}$	>616	5.1	3.2
$5 \times 10^{-3}$	>616	4.5	3.9
$7 \times 10^{-3}$	>616	3.9	2.0
$9 \times 10^{-3}$	>616	5.4	2.3
$10^{-4}$	>616	2.0	4.2
$3 \times 10^{-4}$	>616	3.6	2.0
$5 \times 10^{-4}$	>616	2.9	2.3
$7 \times 10^{-4}$	>616	3.2	---
$9 \times 10^{-4}$	2.6	2.6	---

## 実施例4

## 実験的アレルギー性脳脊髄炎の処置

実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)は、一般的に、MSのための有効なモデルとして認識されている。例えば、Steinman, L. Springer Seminars Immunopathol (1992) 14:79-93を参照のこと。マウスにおいて、ミエリン塩基性タンパク質(MBP)を注射することにより引き起こされ、そして中枢神経系のミエリン髄鞘に付着し、その領域に浸潤し、そして後脚の進行性麻痺を引き起こすMBP特異的T細胞により媒介される(Bernard, C.C.A.ら、J Immunol(1975)114:1537)。本発明者ら

は、PLマウス由来のMBP感作脾細胞またはリンパ球(MPBに対するモノクローナル応答を提供する株)をインビトロでMBPおよびIL-2と共に培養し、次いで、天然レシピエントへ移入することによりこのモデルにおける改良を開発した。これらの

培養細胞の移入は、ほとんど同じ様式で100%のレシピエントにおいて、疾患をもたらす。

予備研究では、移入されるべき細胞を、暗所で60分間、100ng/mlのBPDベルテポルフィン(verteporfin)と共にプレインキュベートし、洗浄し、そして5%FCSを含む200  $\mu$ lの培地に再懸濁した。リポソーム調製物中の40  $\mu$ g/ml BPDの50  $\mu$ lを、細胞に添加し、そしてこの混合物を天然PLレシピエントに静脈内注射した。動物に、狭スペクトル(narrow spectrum)発光ダイオード(690nm $\pm$ 10nm)を含むボックスを用いて、20分間(15J/cm<sup>2</sup>)経皮照射を与えた。

図7は、BPD処理細胞を注射された動物は、EAEを発症しなかったが、細胞を与えたコントロールは、この病状を発症したことを示す。

実験のさらなるセットにおいて、上記の培養したリンパ球を注射されたマウスに、リンパ球の注射直後にリポソーム製剤中の1mg/kgのBPDを投与した。処置されたマウスを、上記のような光に曝す前に、暗所に60分間収容した。光力学治療プロトコル(すなわちBPD-MAの注射、続いてその60分後の光への曝露)を、別々の実験群において、培養したリンパ球の注射後種々の時間で施した。図8における結果は、24時間以内のPDT処置の施行が、EAEを発症を21日目から41日目へ遅らせたことを示す。しかし、48時間の遅延処置では、処置の効果がなかった。

さらなる実験において、リンパ系細胞を注射する24時間前に、PDTを動物に投与した。このプロトコルもまた、EAEに関して予防的であった。

### 実施例 5

#### コラーゲン誘発性関節炎の処置

コラーゲン誘発性関節炎は、慢性関節リウマチの研究のための認識されている実験モデルである。

CIAは、DBA/1マウスにおいて、ウシII型コラーゲンの皮下注射により誘発される。本モデルにおいて、2つのコラーゲンの注射を、最初は0日目、および2回

目は21日目に投与した(Trentham, D.E.ら、J Exp Med (1977)146:857; Courtenay, J.S.ら、Nature(1980)283:665)。

1つのPDT養生法において、マウスに5日目および12日目に1mg/kgのリポソー

ムBPDを静脈内注射し、注射後暗所に60分間保ち、次いで狭スペクトル発光ダイオード(690nm±10nm)により狭照射(narrow irradiation)を提供したボックス中で20分間( $15\text{J}/\text{cm}^2$ )経皮光処置に曝した。図9に示すように、PDT処置を施されたマウスは、コントロールよりも実質的に低いCIAの発生率を示した。

第2の養生法において、上記のPDT処置を24日目および28日目に与えた；図10に示すように、処置したマウスにおいて疾患の発症を有意に遅らせた。

【図1】

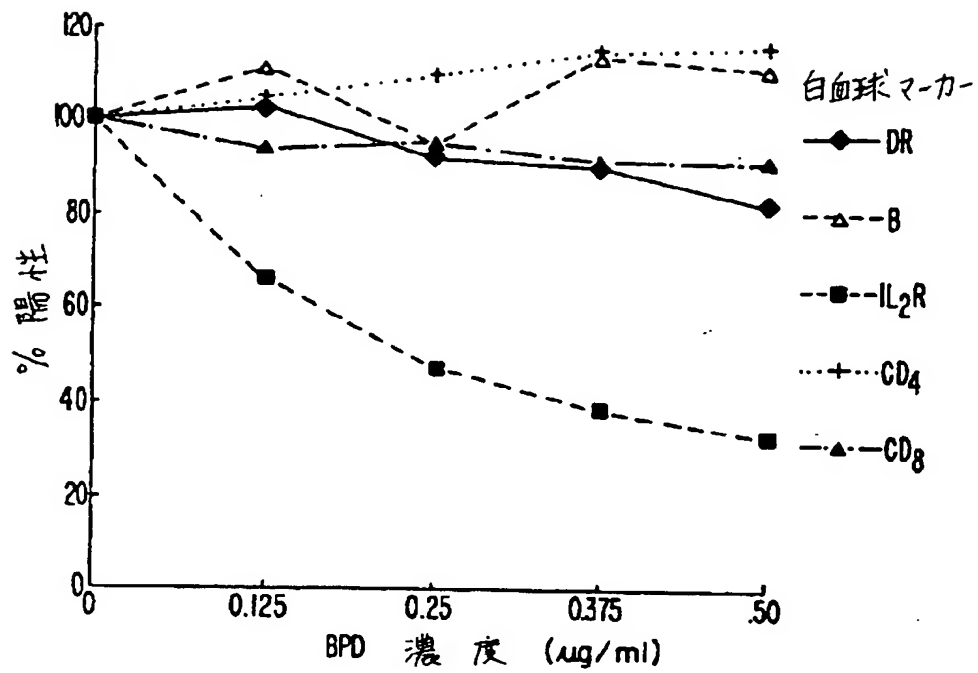


FIG. 1A

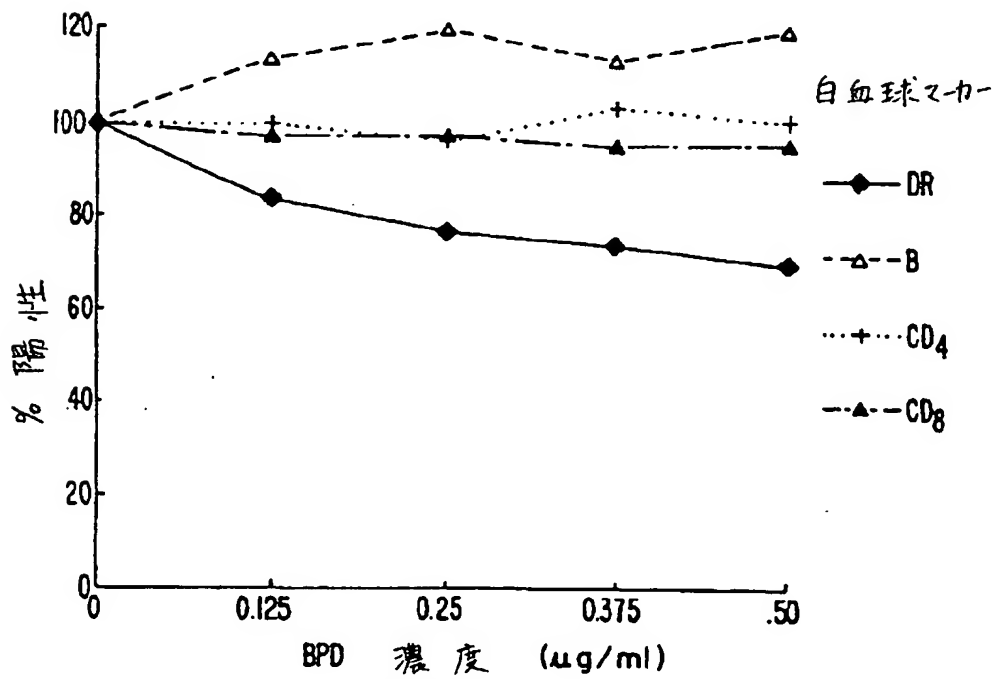


FIG. 1B



【図2】

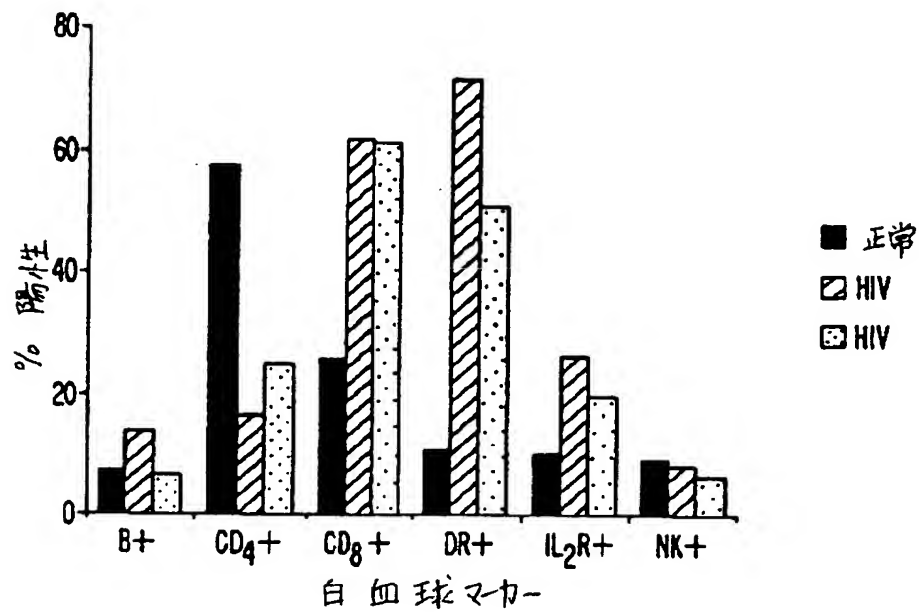


FIG. 2

【図3】

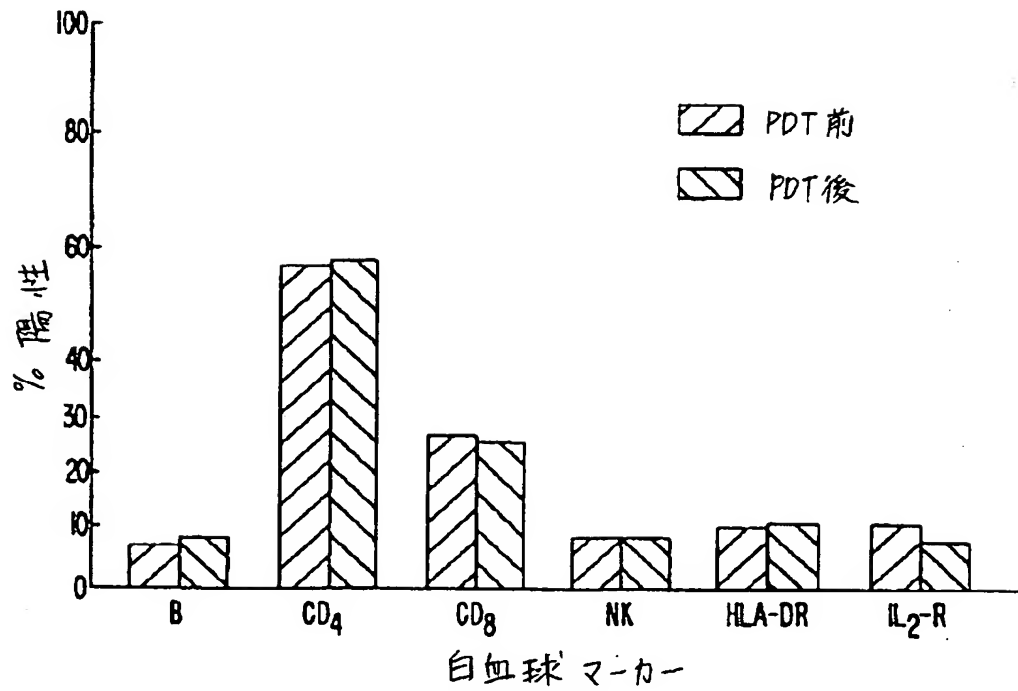


FIG. 3A

【図3】

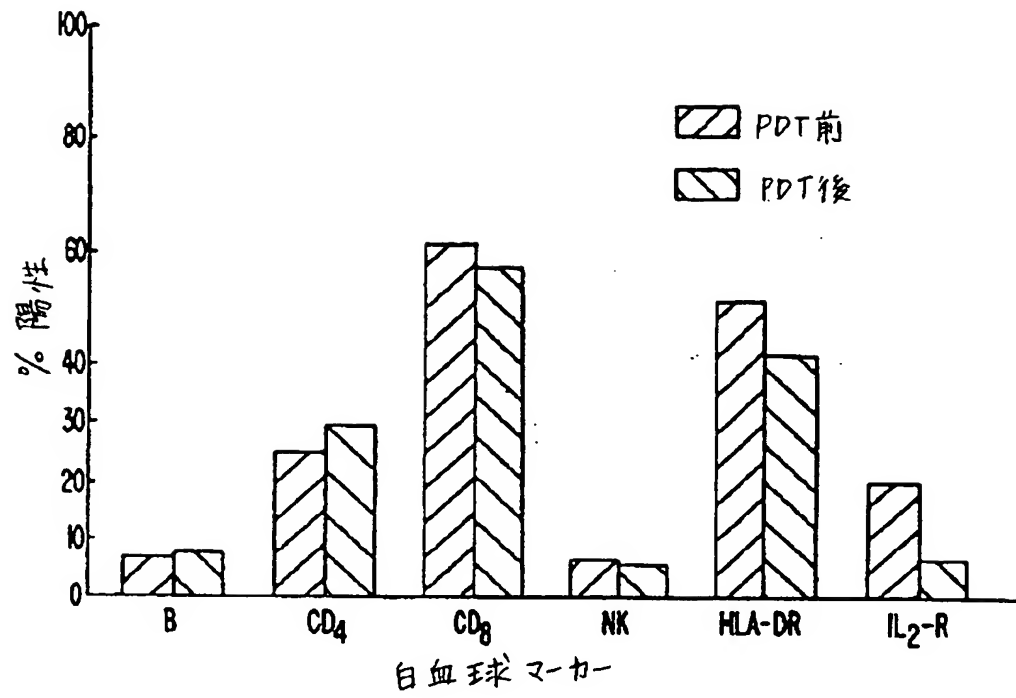


FIG. 3B

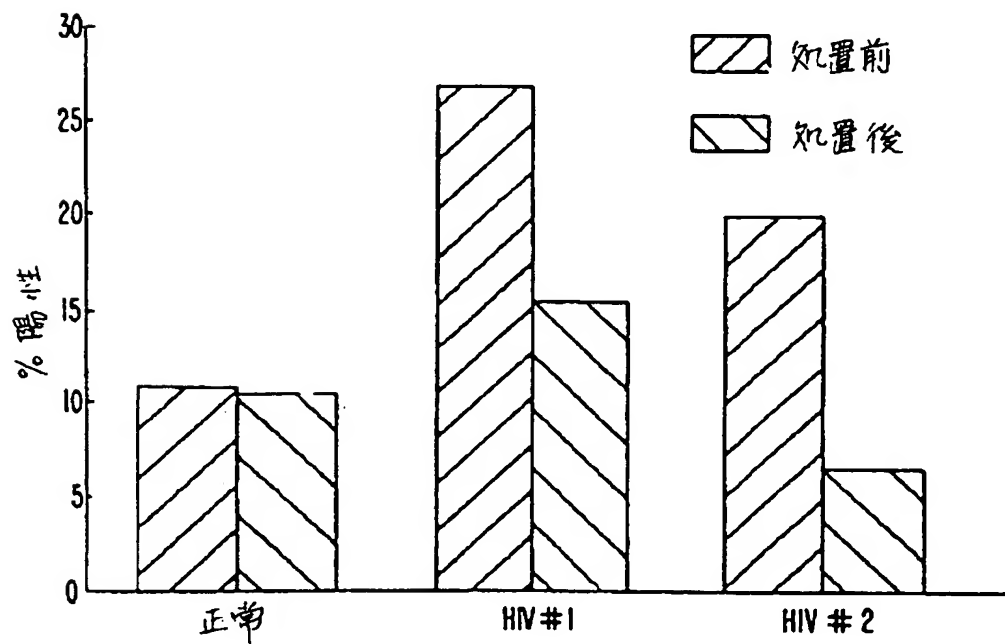


FIG. 3C

【図4】

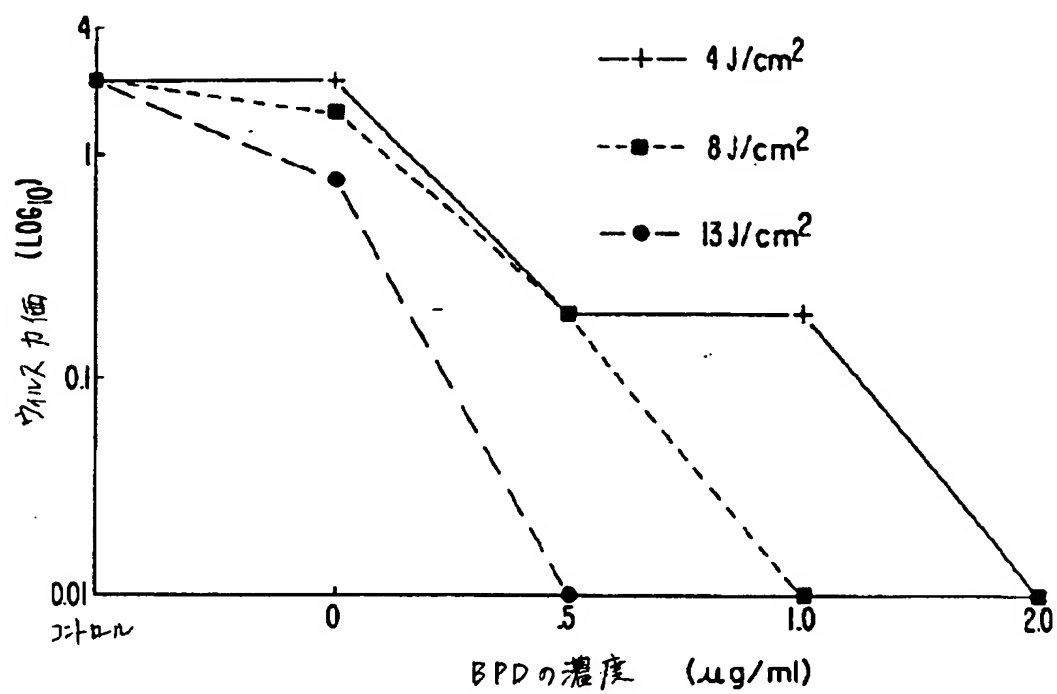


FIG. 4

【図5】

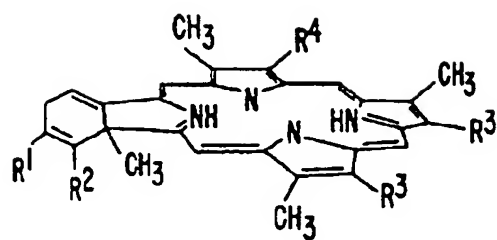


FIG. 5A

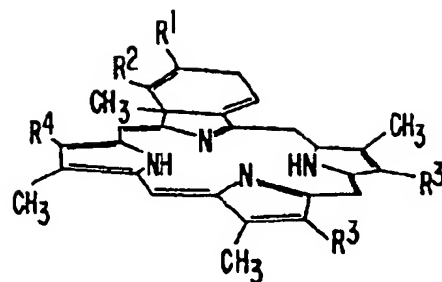


FIG. 5B

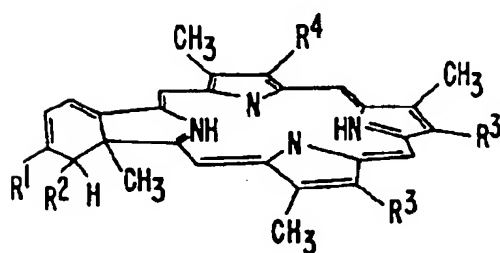


FIG. 5C

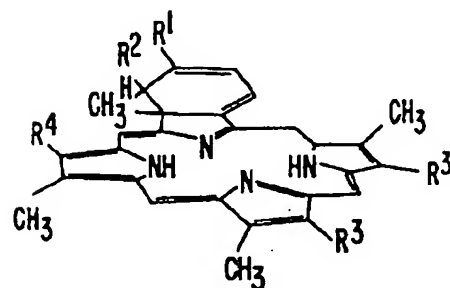


FIG. 5D

【図5】

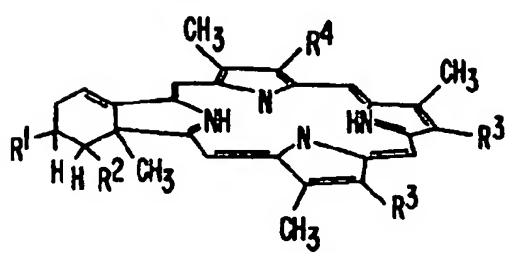


FIG. 5E

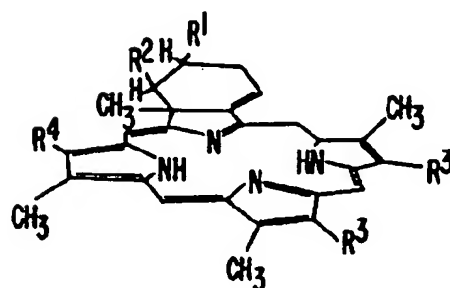


FIG. 5F

【図 6】

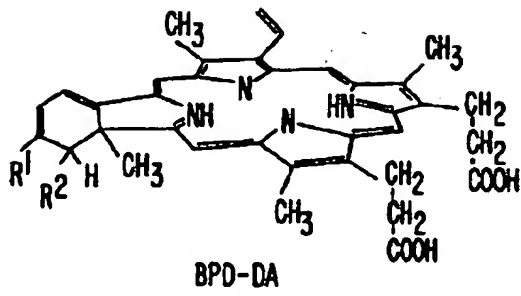


FIG. 6A

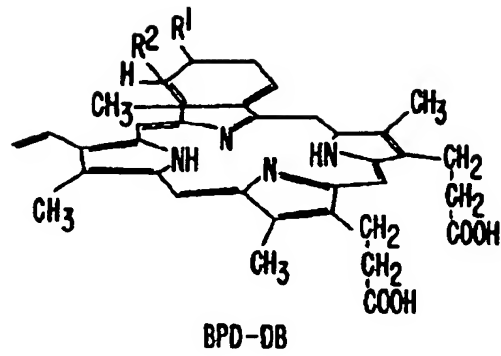


FIG. 6B

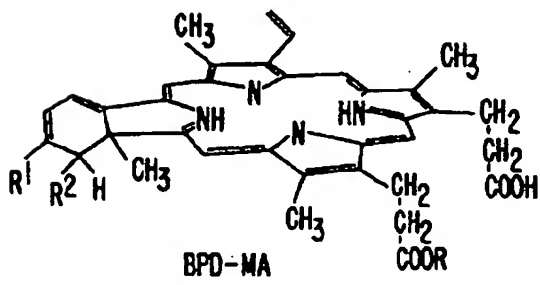


FIG. 6C

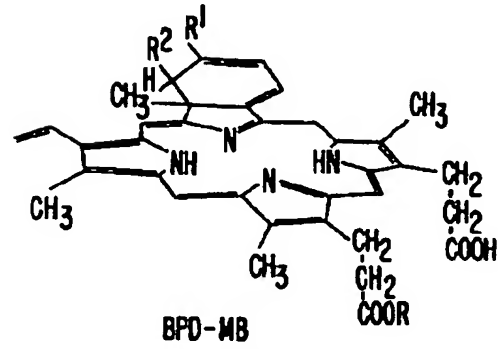


FIG. 6D

【図7】

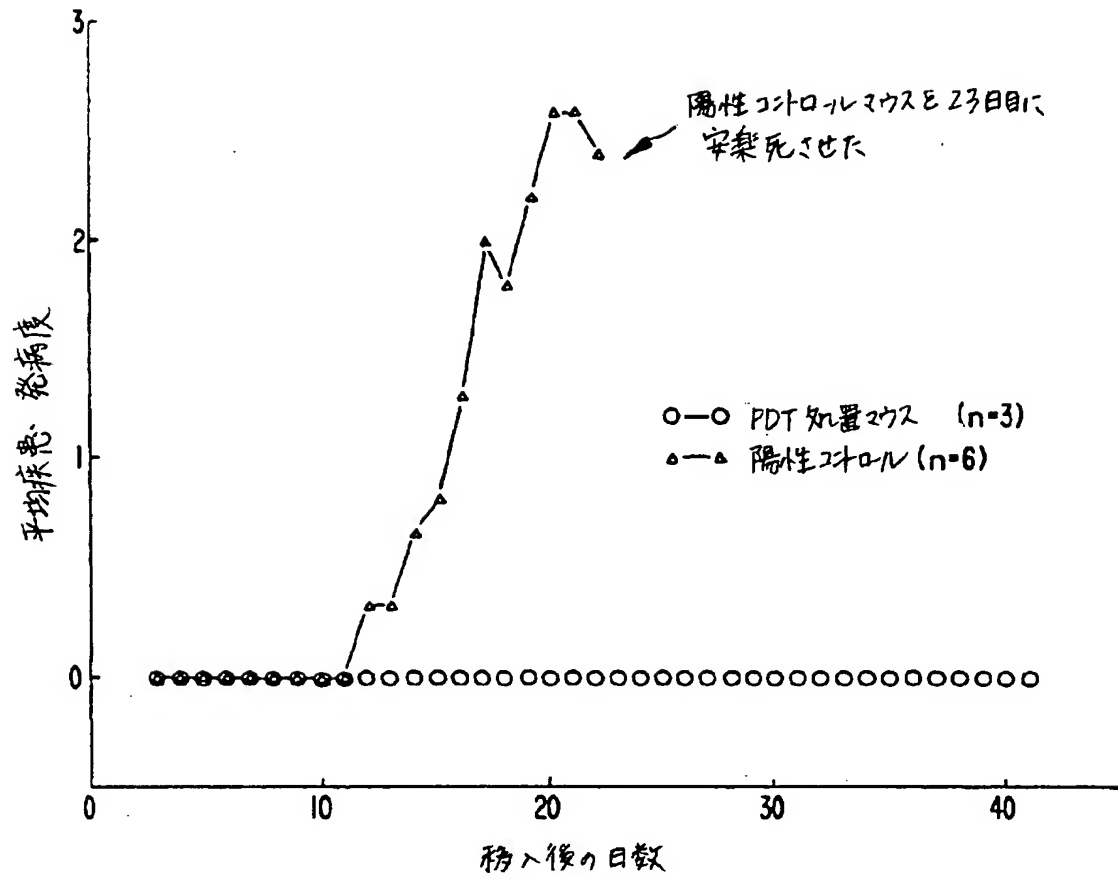


FIG. 7

【図8】

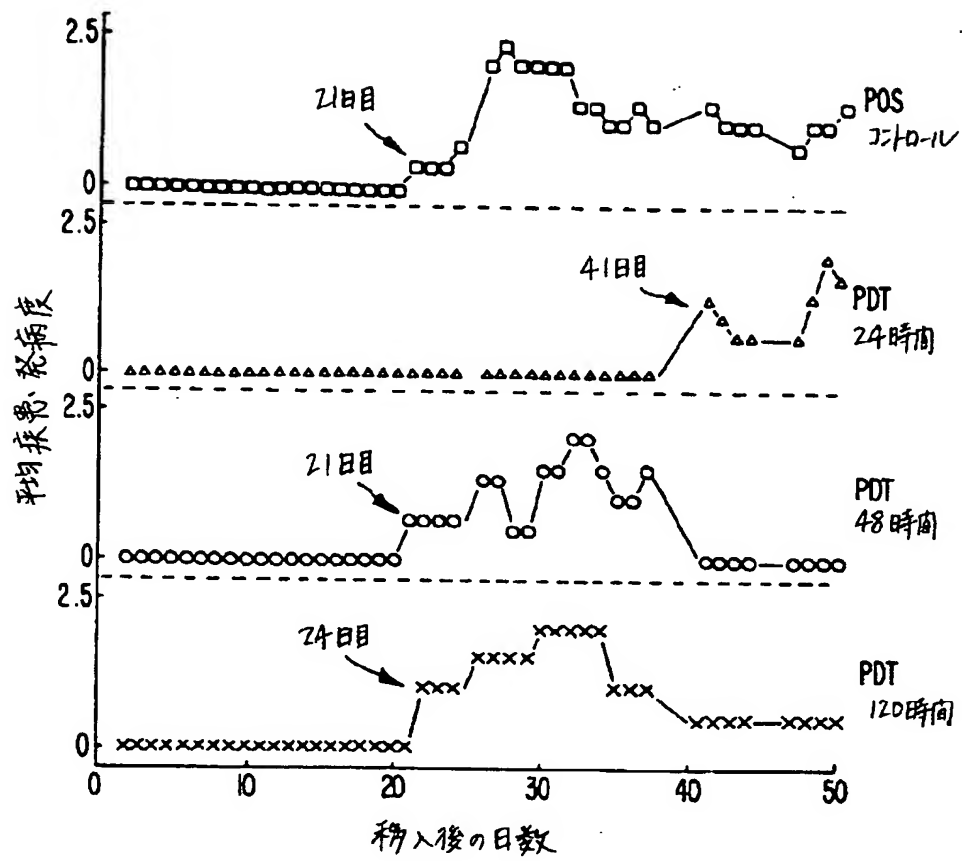


FIG.8

【図9】

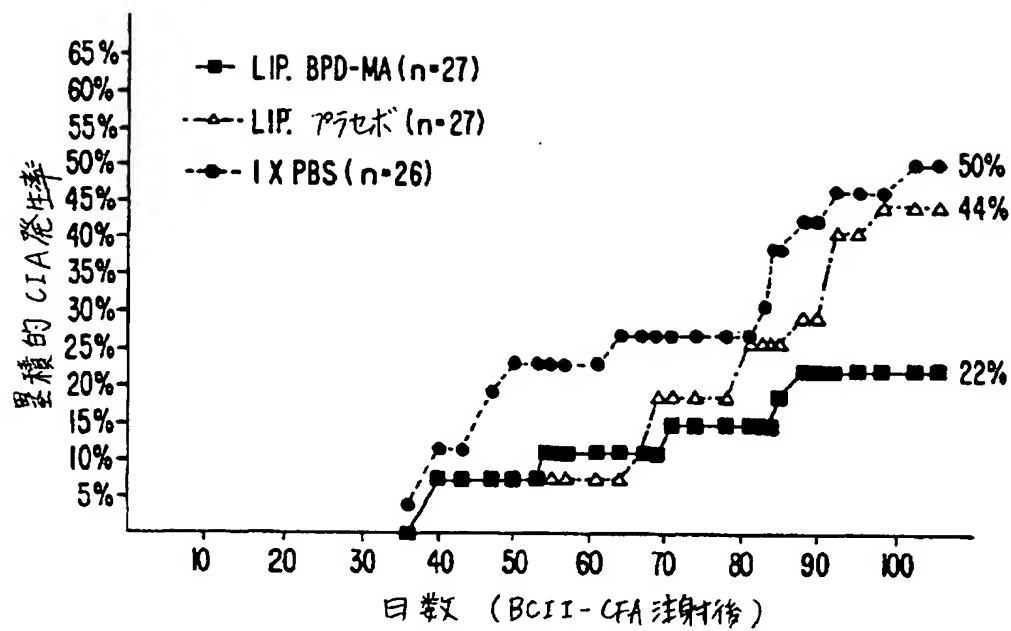


FIG. 9

【図10】

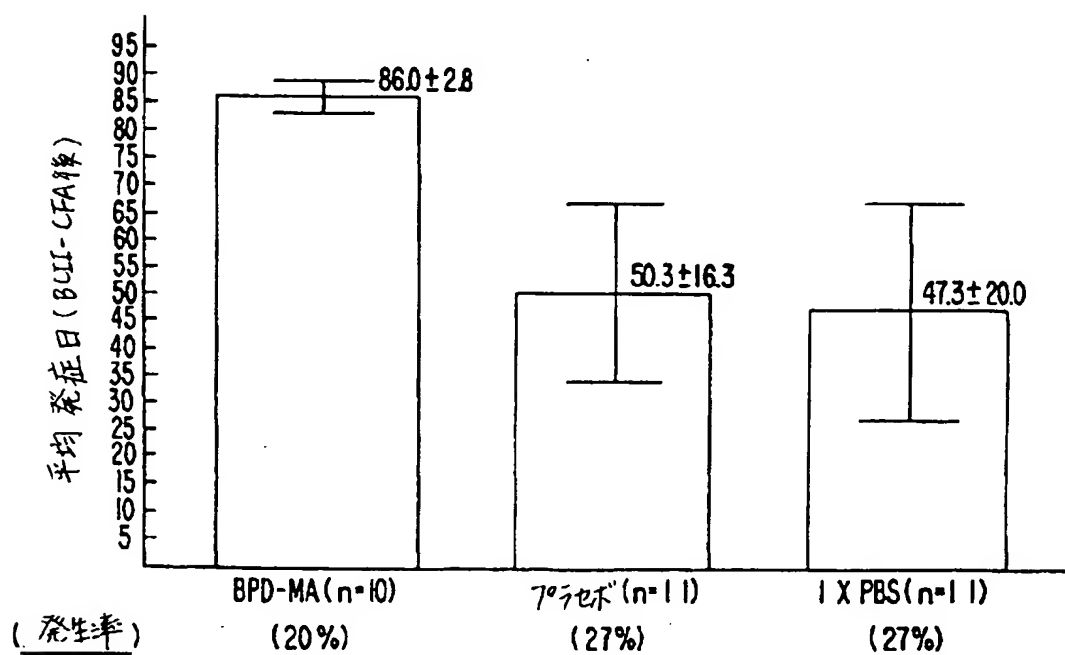


FIG. 10



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Patent Application No.  
PCT/CA 95/00543

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 6 A61K41/00 A61K31/40		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	PHOTOCHEMISTRY AND PHOTOBIOLOGY, vol. 62, no. 1, 1995 pages 169-175, M. OBOCHI ET AL. 'TARGETTING ACTIVATED LYMPHOCYTES WITH PHOTODYNAMIC THERAPY' see the whole document ---	1-39
X	WO, A, 93 24127 (QUADRA LOGIC TECHNOLOGIES) 9 December 1993	1-18, 23-39
Y	see the whole document ---	19-22
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
28 November 1995		16. 01. 96
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentstrasse 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 631 cpo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Hoff, P

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/CA 95/00543

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ARCHIVES OF NEUROLOGY, vol. 47, no. 3, 1990 page 254 R. CAPRA ET AL. 'SIGNIFICANTLY HIGHER LEVELS OF SOLUBLE INTERLEUKINE 2 IN PATIENTS WITH RELAPSING-REMITTING MULTIPLE SCLEROSIS COMPARED WITH HEALTHY SUBJECTS' see the whole document ---	19-22
X	CLIN. EXP. IMMUNOL., vol. 95, no. 3, March 1994 pages 373-377, L.G. RATKAY ET AL. 'PHOTODYNAMIC THERAPY: A COMPARISON WITH OTHER IMMUNOMODULATORY TREATMENTS OF ADJUVANT-ENHANCED ARTHRITIS IN MRL-IPR MICE' see the whole document ---	1-15, 17, 18, 23-39
X	CLINICAL IMMUNOLOGY AND IMMUNOPATHOLOGY, vol. 72, no. 2, August 1994 pages 255-263, R.K. CHOWDHARY ET AL. 'THE USE OF TRANSCUTANEOUS PHOTODYNAMIC THERAPY IN THE PREVENTION OF ADJUVANT-ENHANCED ARTHRITIS IN MRL/IPR MICE ' see the whole document ---	1-15, 17, 18, 23-39
X	PHOTOCHEMISTRY AND PHOTOBIOLOGY, vol. 59, 1994 page 75 J. LEVY ET AL. 'IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF PDT USING BPD' see the whole document & 22ND ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY FOR PHOTOBIOLOGY, June 1994 SCOTTSDALE, USA. ---	1-15, 17, 18, 23-36
X	PROGRESS IN BIOMEDICAL OPTICS, vol. 2078, 1994 pages 293-304, A.M. RICHTER ET AL. 'NON-ONCOLOGIC POTENTIALS FOR PHOTODYNAMIC THERAPY' see the whole document & PROCEEDINGS OF PHOTODYNAMIC THERAPY OF CANCER, September 1993 BUDAPEST, HUNGARY, ---	1-15, 17, 18, 23-39
X	JOURNAL OF PHOTOCHEMISTRY AND PHOTOBIOLOGY, vol. 17, no. 2, 1993 pages 99-108, J. NORTH ET AL. 'PHOTOSENSITIZERS AS VIRUCIDAL AGENTS' see the whole document ---	1-14, 37-39
	--- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/CA 95/00543

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WD,A,94 17797 (THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION) 18 August 1994</p> <p>see abstract see page 4, line 17 - page 6, line 20 see page 7, line 11 - page 9, line 16; claims; examples B,C; tables 1,2 ---</p>	1-15,17, 18, 23-27, 32-36
X	<p>TRANSPLANTATION, vol. 56, no. 6, 1993 pages 1481-1486, B. QIN ET AL. 'ENHANCED SKIN ALLOGRAFT SURVIVAL AFTER PHOTODYNAMIC THERAPY' see the whole document ---</p>	1-4
X	<p>THE YALE JOURNAL OF BIOLOGY AND MEDICINE, vol. 62, no. 6, 1989 pages 565-577. R.L. EDELSON 'PHOTOPHERESIS: A NEW THERAPEUTIC CONCEPT' see the whole document ---</p>	19
X	<p>EP,A,0 392 429 (HOFFMANN-LA ROCHE) 17 October 1990 see the whole document -----</p>	19

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/CA 95/00543

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9324127	09-12-93	AU-B- 4057193	30-12-93
		CA-A- 2136447	09-12-93
		CZ-A- 9402918	13-09-95
		EP-A- 0642342	15-03-95
		FI-A- 945586	27-01-95
		NO-A- 944537	20-01-95
		ZA-A- 9303723	15-12-93
WO-A-9417797	18-08-94	US-A- 5368841	29-11-94
		AU-B- 6137594	29-08-94
		EP-A- 0682517	22-11-95
EP-A-392429	17-10-90	US-A- 4999375	12-03-91
		JP-A- 2290814	30-11-90
		US-A- 5036102	30-07-91

## フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, MW, SD, SZ, UG), AM, AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TT, UA, UG, UZ, VN

(72)発明者 レオン, サイモン  
カナダ国 ブイ5エス 1イー3 プリ  
ティッシュ コロンビア, バンクーバー,  
イースト 47ティーエイチ アベニュー  
3615

(72)発明者 ホウーチンーチャン, アグネス  
カナダ国 ブイ3エイチ 4ブイ7 プリ  
ティッシュ コロンビア, ポート ムーデ  
ィ, アспенウッド ドライブ 119

(72)発明者 カーリー ハント, デイビッド ウィリ  
アム  
カナダ国 ブイ4ビー 4ダブリュー3  
プリティッシュ コロンビア, ホワイト  
ロック, ハブグッド ストリート 886

(72)発明者 レンケ, マーティン  
カナダ国 ブイ3ジェイ 1エイ8 プリ  
ティッシュ コロンビア, パーナビー,  
アルタイアー プレイス 9027

(72)発明者 レビー, ジュリア  
カナダ国 ブイ6ジェイ 4ゼット3 プ  
リティッシュ コロンビア, バンクーバ  
ー, ペニーファーシング レーン 601  
-1490

(72)発明者 ノース, ジャニス  
カナダ国 ブイ5ゼット 4エイチ5 プ  
リティッシュ コロンビア, バンクーバ  
ー, ウエスト 6ティーエイチ アベニ  
ュー 520